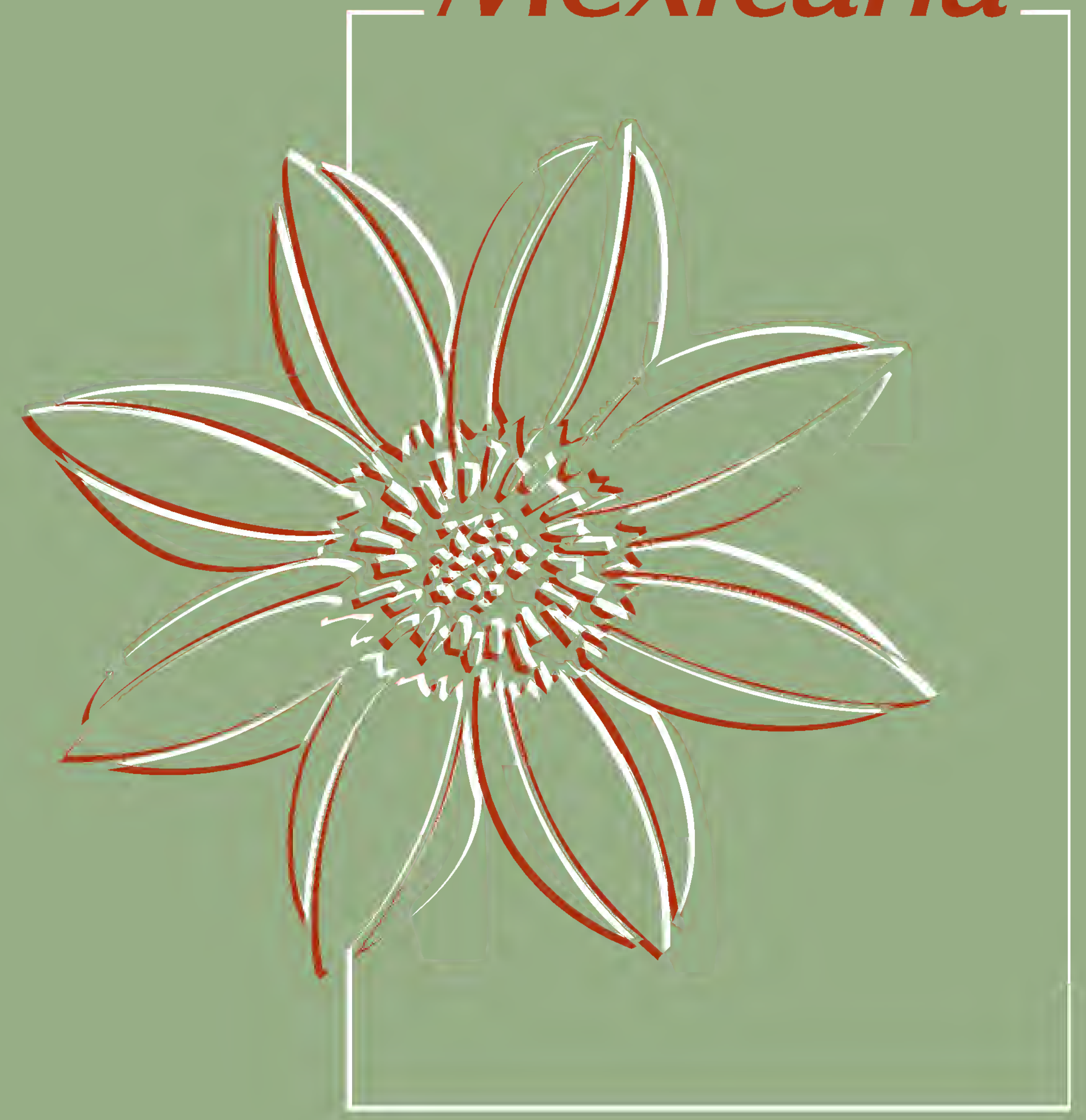
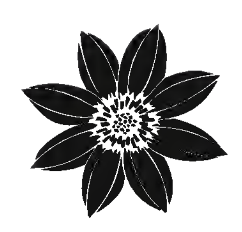
ISSN 0187-7151

Acta Botanica Mexicana



INSTITUTO DE ECOLOGIA, A.C.

Número 88
JULIO 2009
Pátzcuaro, Mich.



Acta Botanica Mexicana

Acta Botanica Mexicana (ISSN 0187-7151) es una publicación de Instituto de Ecología, A.C. que aparece cuatro veces al año. Da a conocer trabajos originales e inéditos sobre temas botánicos y en particular los relacionados con plantas mexicanas. Todo artículo que se presente para su publicación deberá dirigirse al Comité Editorial de Acta Botanica Mexicana. Pueden reproducirse sin autorización pequeños fragmentos de texto siempre y cuando se den los créditos correspondientes. La reproducción o traducción de artículos completos requiere el permiso de la institución que edita la revista. Las normas editoriales e instrucciones para los autores pueden consultarse en la página www.inecol.edu.mx/abm

Acta Botanica Mexicana está actualmente incluida en los siguientes índices de literatura científica: Biological Abstracts, BIOSIS Previews, Dialnet, Índice de Revistas Mexicanas de Investigación Científica y Tecnológica del CONACyT, Journal Citation Reports/Science Edition, Latindex – Catálogo, RedALyC, Science Citation Index Expanded.

Acta Botanica Mexicana 88: 1-8 (2009)

MANFREDA PARVA (AGAVACEAE), ESPECIE NUEVA DEL ESTADO DE GUERRERO, MÉXICO

Aarón Rodríguez

Universidad de Guadalajara, Instituto de Botánica,
Departamento de Botánica y Zoología,
Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias
Apdo. postal 1-139
45101 Zapopan, Jalisco, México.
rca08742@cucba.udg.mx

RESUMEN

Como resultado de recientes colectas botánicas en México, se describe a *Manfreda parva* del estado de Guerrero. Esta especie nueva se caracteriza por sus hojas pequeñas, lineares y falcadas. Pertenece al grupo de *M. guttata* y por la forma de sus hojas es similar a *M. bulbulifera*. Sin embargo, difiere de ésta en el número de hojas, el tamaño de los estambres, el tubo del perianto y los lóbulos del mismo. Se discuten sus afinidades y diferencias morfológicas. *Manfreda parva* se conoce únicamente de la Sierra de Taxco cercana a la ciudad del mismo nombre.

Palabras clave: Agavaceae, *Manfreda*, México.

ABSTRACT

As a result of recent botanical collections in Mexico, *Manfreda parva* is described as a new species from the state of Guerrero. It is characterized by its small, linear and falcate leaves. *Manfreda parva* belongs to the *M. guttata* group and based on leaf characteristics it is similar to *M. bulbulifera*. However, *M. parva* has more leaves, the filaments are shorter, the perianth tube is larger and the perianth lobes are smaller than in *M. bulbulifera*. So far, the new species is known only from the Sierra de Taxco near the town of the same name.

Key words: Agavaceae, *Manfreda*, Mexico.

INTRODUCCIÓN

La familia Agavaceae Endl. tiene una distribución geográfica restringida al continente americano. En México, se reconocen cuando menos 342 especies agrupadas en ocho géneros: *Agave* L., *Beschorneria* Kunth, *Furcraea* Vent., *Hesperaloë* Engelm., *Manfreda* Salisb., *Polianthes* L., *Prochnyanthes* S. Watson y *Yucca* L. (García-Mendoza y Galván, 1995). Recientemente, algunos autores incluyen a *Hesperoyucca* (Engelm.) Baker en la misma familia (Bogler et al., 2006; Good-Avila et al., 2006).

Manfreda se distribuye desde el este y sureste de los Estados Unidos de América (Virginia, Maryland, Indiana, Missouri, Arkansas, Florida y Texas) hasta Honduras y El Salvador (Verhoek-Williams, 1978; Williams, 1998; Rocha et al., 2006). El taxon está formado por más de 30 especies (Piña-Luján, 1985; Espejo y López-Ferrari, 1993; García-Mendoza y Galván, 1995; Rodríguez y Castro-Castro, 2007), de las que 29 se registran de nuestro país. Así, al igual que los demás géneros de agaváceas, *Manfreda* concentra manifiestamente su diversidad en México (García-Mendoza y Galván, 1995; Williams, 1998; Rodríguez y Castro-Castro, 2007). El número de componentes conocidos de *Manfreda* ha aumentado a medida que se intensifica la exploración botánica en el país (García-Mendoza et al., 2000; Castillejos-Cruz y Solano, 2007; Hernández-Sandoval et al., 2008). En septiembre del 2007 se colectaron unas plantas pequeñas de *Manfreda* en las cercanías de Taxco, Guerrero. Después de su examen morfológico se concluyó que se trata de una especie nueva para la cual se propone el siguiente nombre:

Manfreda parva Aaron Rodr., sp. nov. (Figs. 1 y 2).

Herba perennis; cormus 1-4 cm longus, 1-2 cm latus; bulbus oblongus 2-2.5 cm longus, 1-1.5 cm latus; folia (5)11-24, linearia, semisucculenta, plerumque falcata 10-20(25) cm longa, 4-7(9) mm lata; inflorescentiae parte fertile 15-30 cm longa, laxa, (4)9-15 floribus; quisque flos 3.5 cm longus; ovario 7 mm longo, 4 mm lato; perianthii tubo 1.5-1.8 cm longo, 4.5 mm diametro, ad apicem ovarii constrictione destituto; segmentis oblongis 7-8 mm longis, 4-5 mm latis, reflexis; capsula 12-17.5 mm longa, 8-13 mm diametro, subglobosa, humero cicatrice manifesta.

Planta herbácea, perenne de 40-60 cm de alto; cormo de 1-4 cm de largo, 1-2 cm de diámetro, con raíces contráctiles carnosas y fibrosas; bulbo de 2-2.5 cm de largo, 1-1.5 cm de diámetro en la base, oblongo, cubierto por las bases de las

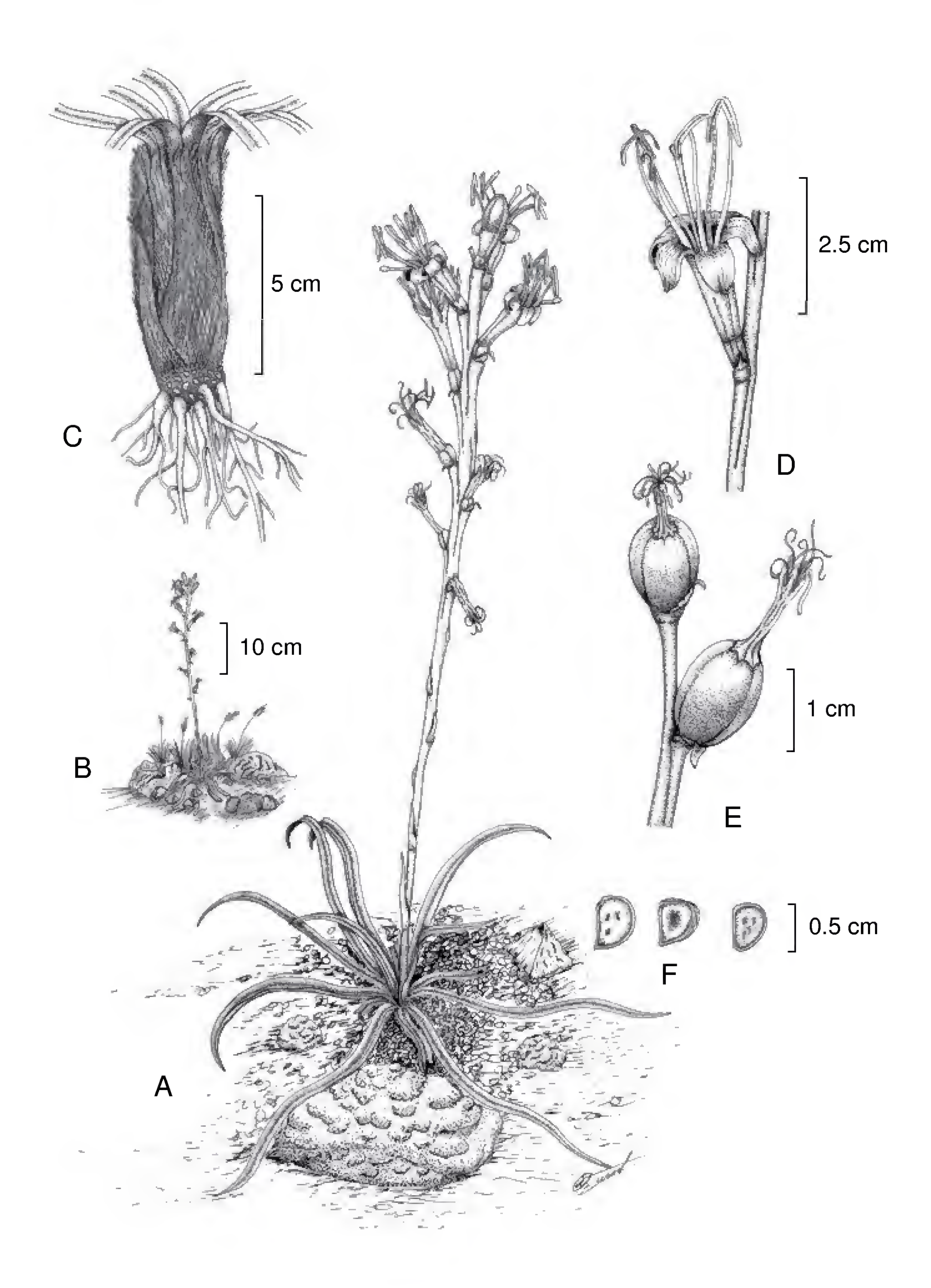


Fig. 1. *Manfreda parva.* A y B. hábito; C. cormo y bulbo; D. flor; E. frutos; F. semillas. (*A. Rodríguez et al. 5211,* IBUG).



Fig. 2. *Manfreda parva*. A. hábito; B. flores; C. frutos (*A. Rodríguez et al. 5211*, IBUG).

hojas secas, éstas de 6-6.5 cm de largo, membranáceas en la base y con la parte superior fibrosa; hojas del periodo de crecimiento anterior persistentes pero secas; hojas (5)11-24, de 10-20(25) cm de largo, 4-7(9) mm de ancho, extendidas, semisuculentas, lineares, falcadas, verdes, glabras, margen entero, con una banda hialina muy angosta y sólo visible al microscopio, sin papilas, ápice agudo; inflorescencia de 35-60 cm de largo, erecta, porción fértil de 15-30 cm de largo, laxa, con (4)9-15 flores, eje de color verde en toda su longitud, brácteas 4-7 en la parte estéril, la tercera bráctea basal de (2)4-5 cm de largo, 7-8 mm de ancho en la base, brácteas florales de 8-9 mm de largo, 6 mm de ancho, ovadas, apiculadas; flores de 3.5 cm de largo, difusas, ascendentes, sésiles, verdes con máculas pequeñas, rojizas; tubo del perianto de 1.5-1.8 cm de largo, 4-5 mm de diámetro, sin constricción en el ápice del ovario, recto o ligeramente curvado hacia el exterior, segmentos de 7-8 mm de largo, 4-5 mm de ancho, oblongos, reflexos, ápice semisuculento, cuculado, con un mechón de tricomas blancos; los filamentos exceden al tubo por 2.5 cm, adnados a la boca del tubo, libres desde la base de los lóbulos, dispuestos en un mismo nivel, erectos en la antesis, verdes con máculas rojizas; anteras de 10-11 mm de largo, 1-1.5 mm de ancho, verdes con máculas rojizas; ovario de 7 mm de largo y 4 mm de diámetro, obclaviforme, verde con máculas rojizas; estilo alcanzando hasta la mitad del largo de los estambres, posteriormente se alarga y llegan a la altura de los mismos, estigma trilobado, verde-amarillento; fruto capsular, de 12-17.5 mm de largo, 8-13 mm de diámetro, subgloboso, triquetro, ápice con cicatriz circular de 4-6 mm de diámetro, con restos secos del perianto, base del estilo persistente en el fruto en forma de un pico de 3-5 mm de largo; semillas de 4.5-5 mm de largo, 3.5 de ancho, plano-cóncavas, negras, brillantes.

Tipo: México, Guerrero: municipio de Taxco, 3 km al NE de Taxco, a lo largo de la carretera de cuota, justo en El Mirador. Alt. 1845 m. 7.IX.2007, *A. Rodríguez et al. 5211* (Holótipo: IBUG, isótipos: ENCB, IEB, MEXU, WIS).

Parátipos: México, Guerrero: municipio de Taxco, 3 km al NE de Taxco, a lo largo de la carretera de cuota, justo en El Mirador. Alt. 1845 m. 27.VII.2008, *A. Rodríguez & L. F. Pérez-Álvarez 5518* (CHAPA, ENCB, FEZA, IBUG, IEB, MEXU, WIS, XAL).

Distribución y hábitat: *Manfreda parva* crece cerca de Taxco, Guerrero. Habita en laderas rocosas de poca pendiente en bosques de pino y encino perturbado y a una altitud de 1845 m. En el sitio son evidentes *Agave horrida* Jaco-

bi, *Dodonea viscosa* Jacq., *Juniperus deppeana* Steud. y *Mammillaria haageana* Pfeiff.

Fenología: florece en julio y fructifica de agosto a septiembre. El epíteto específico se refiere al tamaño pequeño de las plantas.

Las relaciones filogenéticas entre las especies de *Manfreda* no han sido determinadas. Sin embargo, Verhoek-Williams (1975) propuso grupos de especies con base en características foliares y florales. *Manfreda parva* es única por sus hojas pequeñas, lineares y falcadas, pero sus características florales nos permiten asociarla con el conjunto de *M. guttata* (Jacobi et Bouché) Rose, donde se encuentran: *M. bulbulifera* Castillejos & E. Solano, *M. guttata*, *M. littoralis* García-Mend., A. Castañeda et S. Franco, *M. pringlei* Rose, *M. planifolia* (S. Watson) Rose y *M. rubescens* Rose (Verhoek-Williams, 1975; García-Mendoza et al., 2000; Castillejos-Cruz y Solano, 2007). En todas estas especies el ápice del ovario se prolonga hacia el interior de la base del tubo del perianto. En *M. guttata*, *M. littoralis*, *M. planifolia*, *M. pringlei* y *M. rubescens* las flores se disponen de forma compacta hacia la parte distal de la inflorescencia. En contraste, en *M. bulbulifera* y *M. parva* la espiga es laxa y fértil desde la parte media del eje.

Manfreda parva y *M. bulbulifera* tienen hojas lineares pero el número de éstas es mayor en la primera. Otras diferencias entre estas dos especies se resumen en el Cuadro 1.

La presencia de *Manfreda parva* cerca de la ciudad de Taxco muestra la importancia de las exploraciones botánicas. Martínez-Gordillo et al. (2007) elaboraron un inventario de la flora vascular de la Sierra de Taxco. Sus resultados muestran la presencia de 1794 especies y 16 taxones infra-específicos agrupados en 653 géneros y 159 familias. De acuerdo con los autores, Agavaceae está representada por cinco especies que incluyen *M. scabra* (Ort.) McVaugh y *M. pringlei*. Aparentemente, *M. parva* pasó desapercibida, a pesar de su cercanía a la ciudad de Taxco.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a Osvaldo Zuno la elaboración de la figura 1. También deseo expresar mi gratitud a Luis Fernando Pérez Álvarez, Mary Gerritsen y Ron Parsons por su ayuda durante el trabajo de campo. Por último, doy gracias a Roberto González Tamayo por su ayuda con la diagnosis en latín.

Cuadro 1. Comparación morfológica entre *Manfreda parva* y *M. bulbulifera*.

Característica	*M. parva*	*M. bulbulifera*
Cormo	(1)4-6 cm de largo, sin bulbillos	0.5-0.7 cm de largo, bulbillos presentes
Bases secas de las hojas	membranáceas en la base y con la parte superior fibrosa, 6.0-6.5 cm de largo	membranáceas en la base y con la parte superior fibrosa, 4.5-6.0 cm de largo
Hojas	(5)11-24, 10-20(25) cm x 4-7(9) mm, las del período de crecimiento próximo anterior presentes y secas, extendidas, lineares, falcadas	2-4, 12-25 cm x 3-6 mm, las del periodo de crecimiento próximo anterior ausentes, lineares a linear-lanceoladas, postradas o semierectas, atenuadas
Superficie de las hojas	glabra	glabra a ligeramente verrugosa en el haz
Margen	hialino, sin papilas	hialino, irregularmente papiloso
Eje de la inflorescencia	35-60 cm de largo	70-80(86) cm de largo
Porción fértil de la inflorescencia	laxa, 15-30 cm de largo	laxa, 7.0-8.5(12) cm de largo
Número de flores por inflorescencia	(4)9-15	7-10
Color de las flores	verde con máculas pequeñas rojizas	verde amarillento o verde-blanquecino
Longitud del tubo del perianto	15-18 mm	0.5-1.0 mm
Segmentos del perianto	7-8 x 4-5 mm, oblongos, reflexos	25-30(35) x 1.5-3 mm, lineares, erectos o reflexos
Longitud de los filamentos excediendo al tubo del perianto	2.5 cm	5-6 cm
Ovario	7 x 4 mm, obclaviforme	1.2 x 3.2 mm, obclaviforme
Fruto	12.0-17.5 x 8-13 mm, subgloboso, triquetro, ápice con cicatriz circular de 4-6 mm de diámetro	10-12 x 11-12 mm, subgloboso, triquetro, ápice sin cicatriz

LITERATURA CITADA

Bogler, D. J., J. C. Pires y J. Francisco-Ortega. 2006. Phylogeny of Agavaceae based on *ndh*F, *rbc*L, and ITS sequences: implications of molecular data for classification. Aliso 22: 313-328.

Castillejos-Cruz, C. y E. Solano. 2007. *Manfreda bulbulifera* (Agavaceae), especie nueva de México. Acta Bot. Mex. 82: 67-73.

Espejo, A. y A. R. López-Ferrari. 1993. Las monocotiledóneas mexicanas. Una sinopsis florística. Lista de referencia. Parte 1. Consejo Nacional de la Flora de México. Universidad Autónoma Metropolitana. México D.F. pp. 33-36.

García-Mendoza, A. y R. Galván. 1995. Riqueza de las familias Agavaceae y Nolinaceae en México. Bol. Soc. Bot. Méx. 56: 7-24.

García-Mendoza, A., A. Castañeda-Rojas e I. S. Franco-Martínez. 2000. *Manfreda littoralis* (Agavaceae), nueva especie de Guerrero y Oaxaca, México. Acta Bot. Mex. 50: 39-45.

Good-Avila, S. V., V. Souza, B. S. Gaut y L. E. Eguiarte. 2006. Timing and rate of speciation in *Agave* (Agavaceae). Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 103: 9124-9129.

Hernández-Sandoval, L., R. Orellana y G. Carnevali. 2008. Two new species of *Manfreda* Salisb. (Agavaceae) from the Yucatán Peninsula, Mexico. Jour. Torr. Bot. Soc. 135: 168-177.

Martínez-Gordillo, M., R. Cruz-Durán y C. A. Ruiz-Jiménez. 2007. Flora vascular de la Sierra de Taxco. In: Luna, I., J. J. Morrone y D. Espinosa (eds.). Diversidad de la Faja Volcánica Transmexicana. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F. pp. 149-171.

Piña-Luján, I. 1985. Consideraciones sobre el género *Manfreda* I. Cact. Suc. Mex. 30(2): 27-32.

Rocha, M., S. Good-Avila, F. Molina-Freaner, H. T. Arita, M. Castillo, A. García-Mendoza, A. Silva-Montellano, B. S. Gaut, V. Souza y L. E. Eguiarte. 2006. Pollination biology and adaptive radiation of Agavaceae, with special emphasis on the genus *Agave*. Aliso 22: 329-344.

Rodríguez, A. y A. Castro-Castro. 2007. Potencial ornamental de los “amoles” (*Manfreda*, Agavaceae) en México. Ibugana 15(1): 3-11.

Verhoek-Williams, S. 1975. A study of the tribe Poliantheae (including *Manfreda*) and revision of *Manfreda* and *Prochnyanthes* (Agavaceae). Ph.D. Thesis. Cornell University. Ithaca, Nueva York. 405 pp.

Verhoek-Williams, S. 1978. Huaco and amole: a survey of the uses of *Manfreda* and *Prochnyanthes*. Econ. Bot. 32: 124-130.

Williams, S. 1998. Agavaceae. In: Kubitzki, K. (ed.). The families and genera of vascular plants III: flowering plants. Monocotiledons, Lilianae (except Orchidaceae). Springer. Berlin. pp. 60-70.

Recibido en noviembre de 2008.

Aceptado en marzo de 2009.

Acta Botanica Mexicana 88: 9-29 (2009)

CYST-THECA RELATIONSHIPS OF GONYAULACALES AND PERIDINIALES (DINOPHYCEAE) FROM BAHÍA CONCEPCIÓN, GULF OF CALIFORNIA

Lourdes Morquecho[1], Diana T. Góngora-González[1] & Yuri B. Okolodkov[2]

[1]Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, Mar Bermejo 195,
colonia Playa Palo de Santa Rita, 23090 La Paz, Baja California Sur, México.
lamorquecho@cibnor.mx
[2]Universidad Veracruzana, Centro de Ecología y Pesquerías,
calle Hidalgo núm. 617, colonia Río Jamapa, 94290
Boca del Río, Veracruz, México. yurikolodkov@yahoo.com

ABSTRACT

Based on samples obtained in 2000-2002 from a 1-cm layer of surface sediment at two sites in Bahía Concepción in the Gulf of California, cyst-theca relationships were defined from cyst germination assays for *Gonyaulax spinifera* (= *Spiniferites mirabilis*), *Protoceratium globosum*, *Preperidinium meunieri* (= *Dubridinium caperatum*), *Protoperidinium denticulatum* (= *Brigantedinium irregulare*), and *Protoperidinium* cf. *thorianum*. All the taxa are illustrated with photomicrographs and descriptions of the resting and vegetative stages are given, including synonymy, size variation, distribution in Mexico, and global distribution, when known. As a result of cyst germination assays, the previously unknown cyst-theca relationship of *P. globosum* was described. We also confirmed the presence of the vegetative stage of *P. denticulatum* in the Gulf of California and heterospory in *G. spinifera* from Bahía Concepción. Cultures of *G. spinifera* and *P. globosum* were successfully established.

Keywords: cyst-theca relationships, dinoflagellates, Gonyaulacales, Gulf of California, Mexican Pacific, Peridiniales.

RESUMEN

Mediante ensayos de germinación se logró definir la relación quiste-teca de *Gonyaulax spinifera* (= *Spiniferites mirabilis*), *Protoceratium globosum*, *Preperidinium*

meunieri (= *Dubridinium caperatum*), *Protoperidinium denticulatum* (= *Brigantedinium irregulare*) y *Protoperidinium* cf. *thorianum*. Los quistes se aislaron a partir del primer centímetro de sedimento superficial de muestras colectadas durante el periodo 2000-2002 en Bahía Concepción, Golfo de California. Los taxa identificados se ilustran con microfotografias, se describe la morfología de los estadios quístico y vegetativo, y también se incluye información sobre sinonimias, variación en talla y su distribución en México y en el mundo. Los ensayos de germinación permitieron describir por primera vez la relación quiste-teca de *P. globosum*, confirmar la presencia del estadio vegetativo de *P. denticulatum* en el Golfo de California y de la heterosporia en *G. spinifera*. También se establecieron con éxito cepas de *G. spinifera* y *P. globosum*.

Palabras clave: dinoflagelados, Golfo de California, Gonyaulacales, Pacífico mexicano, Peridiniales, relación quiste-teca.

INTRODUCTION

The life cycle of many dinoflagellates includes a motile flagellate stage and a non-motile cyst stage. Dinoflagellate cysts can survive at low temperature, under anoxic and dark conditions, and represent a key stage in the survival of a species and its spatial dispersion over extended time periods (Hallegraeff & Bolch, 1992).

In recent years, morphological studies of dinoflagellate cysts by germination experiments have been increasingly regarded as important in the classification of modern dinoflagellates, elucidation of the role of cysts in their life cycle and survival strategy, detection of harmful species seed beds, and determination of geographic distribution and patterns of succession (Wall & Dale, 1966; Bolch et al., 1991; Kokinos & Anderson, 1995; Sonneman & Hill, 1997; Kremp, 2000; Ellegaard et al., 2001; Ellegaard et al., 2002; Matsuoka et al., 2006). Morphology of resting cysts is regarded as an important character in species diagnosis, which at present is principally based on the morphology of the vegetative stage (Montresor et al., 1993). However, much confusion still exists regarding the taxonomic relationships of many resting cysts and their corresponding motile stages (Sonneman & Hill, 1997). Additionally, many of these species have two names because the cyst and motile stages were described and named independent of one another by palynologists and phycologists, respectively (Ellegaard et al., 2001). We used the classification of living and fossil dinoflagellates proposed by Fensome et al. (1993); in most cases we cited the biological name, but both set of names, including authors, are sumarized in Table 1.

Table 1. Cited names and authors of Gonyaulacales and Peridiniales, based on their motile and cyst stages.

Order	Biological taxon	Cyst-based taxon
Gonyaulacales	*Gonyaulax digitalis* (Pouchet) Kof.	*Bitectatodinium tepikiense* Wilson
	Gonyaulax membranacea (Rossignol) Ellegaard et al.	*Spiniferites membranaceus* (M. Rossignol) Sarjeant
	Gonyaulax spinifera (Clap. et Lachm.) Diesing	*Nematosphaeropsis labyrinthus* (Ostenfeld) Reid *Spiniferites mirabilis* (M. Rossignol) Sarjeant *Tectatodinium pellitum* (Wall) Head
	Lingulodinium polyedra (F. Stein) J. D. Dodge	
	Protoceratium globosum Kof. et J. R. Michener	
	Protoceratium reticulatum (Clap. et J. Lachm.) Bütschli (= *Gonyaulax grindleyi* Reinecke)	*Operculodinium centrocarpum* (Deflandre et Cookson) Wall *Operculodinium israelianum* (Rossingnol) Wall *Operculodinium psilatum* Wall
Peridiniales	*Preperidinium meunieri* (Pavill.) Elbr.	*Dubridinium caperatum* Reid
	Protoperidinium avellana (Meunier) Balech	*Brigantedinium cariacoense* (Wall) Reid
	Protoperidinium conicoides (Paulsen) Balech	*Brigantedinium simplex* Wall
	Protoperidinium denticulatum (Gran et Braarud) Balech	*Brigantedinium irregulare* Matsuoka ex Head
	Protoperidinium cf. thorianum (Paulsen) Balech	
	Scrippsiella trochoidea (F. Stein) A. R.Loebl.	

There are 1555 marine dinoflagellates species living today (Gómez, 2005) and at least 180 of them produce organic-walled resting cysts (Head, 1996). The main

morphological characteristics used to identify dinoflagellate cysts are the general morphology of the body and ornamentation, structure and color of the wall, and archeopyle type (Matsuoka & Fukuyo, 2000). In most cases the archeopyle is essential to discriminate between major taxa of dinoflagellates. However, living cyst archeopyles are hard to see under light microscopy before germination, so it is difficut to use this character to identify morphotypes, particularly from the Gonyaulacales and Peridiniales because of their complex and very similar morphology. For example, in the Gonyaulacales, heterospory led taxonomists to propose groups or species complexes (Dale, 1983; Lewis et al., 1999). Whether the motile stages have been underclassified or cysts overclassified, is under discussion (Taylor & Gaines, 1989; Ellegaard et al., 2003). The cysts of *Protoperidinium* Bergh and the Diplopsalioideae are dominant heterotrophic groups in extant dinoflagellate benthic assemblages. However, most of their cysts are spherical and have a simple external morphology. Therefore, they are very difficult to identify, except for the archeopyle shape and position, and no information on tabulation can be inferred (Matsuoka et al., 2006).

Studies of dinoflagellate cysts in Mexico are scanty and carried out mainly in the northwestern coastal zone along the Pacific. In Bahia de Todos Santos on the Pacific coast of the State of Baja California, 18 species of organic-walled dinoflagellate cysts were identified, with gonyaulacalean and peridinialean cysts being the predominant morphotypes (Peña-Manjarrez et al., 2005). According to Martínez-Hernández and Hernández-Campos (1991), the organic-walled peridinialean cysts, represented mainly by *Protoperidinium conicoides* and *P. avellana*, were common groups in the Gulf of California. In general, the gonyaulacalean cysts were scarce within the Gulf and only *Gonyaulax spinifera* was frequent in the Guaymas basin (middle region of the Gulf of California), particularly in phosphorus-rich sediments. In Bahía Concepción (Fig.1), the calcareous Peridiniales and Gonyaulacales cysts were the most abundant morphotypes, mainly represented by *Lingulodinium polyedra* and *Scrippsiella trochoidea* (Morquecho & Lechuga-Devéze, 2003).

The thecal morphology of the vegetative stage of 17 *Protoperidinium* species from the southwestern coast of Mexico has been recently studied in detail by Okolodkov (2005). However, some previously reported Peridiniales species had been misidentified and the diversity of the group is underestimated (Okolodkov, 2002; Okolodkov et al., 2003; Okolodkov & Gárate-Lizárraga, 2006). The taxonomy of the genus *Gonyaulax* Diesing and Gonyaulacales in general has not been studied in detail in Mexico and some species had also been misidentified (Okolodkov & Gárate-Lizárraga, 2006).

Studies of dinoflagellate benthic cysts in any given area can reveal species not previously found in the water column because the vegetative stage is rare, short-lived, or difficult to identify. The objective of this survey was to establish cyst-theca relationships in selected Gonyaulacales and Peridinales species in Bahía Concepción in the Gulf of California.

MATERIAL AND METHODS

Sediment samples were collected every 15 days from January 2000 to December 2001, and from April to June 2002 with a gravity corer equipped with plastic tubes (20 cm long, 1.3 cm diameter) at two sites in Bahía Concepción (Fig. 1). The

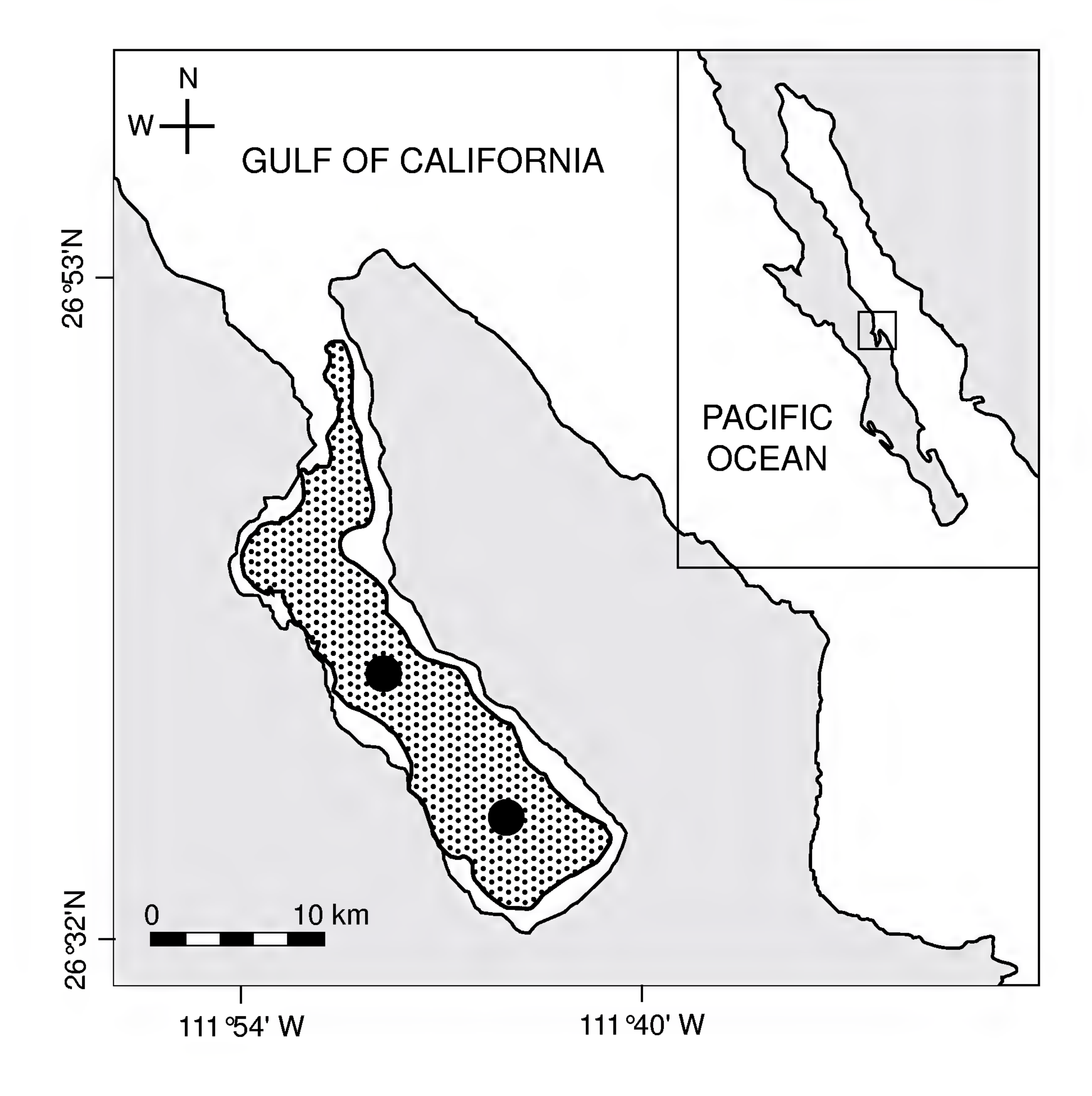


Fig. 1. Sampling sites (black circles) in Bahía Concepción, Gulf of California during 2000-2002. The stippled area indicates green mud (Meldahl et al., 1997).

samples were wrapped in aluminium foil and stored in the dark at 20 ± 3 ºC until examination. The water column was 27-30 m deep and the sea floor was composed of mud (Meldahl et al., 1997) that experienced seasonal eutrophication (Lechuga-Devéze et al., 2001; Morquecho & Lechuga-Devéze, 2004). Abundance and cyst assemblages of recent sediments in Bahía Concepción were compiled by Morquecho & Lechuga-Devéze (2003). Seasonal variations in the phytoplankton community, particularly in meroplanktonic dinoflagellates and physico-chemical characteristics of the water column during the sediment collection period were described by Morquecho and Lechuga-Devéze (2004).

To define cyst-theca relationships, the uppermost centimeter of each sample was processed by the method for cleaning and concentrating cysts described by Matsuoka et al. (1989) and Matsuoka & Fukuyo (2000). The sediment was gently sonicated for 5 min. with an ultrasonic cleaner (Branson Ultrasonics, Danbury, CT, USA), filtered through a 100-µm mesh sieve to remove large sediment particles, and then filtered through a 20-µm mesh sieve and washed with filtered seawater. Samples were stored in 15-ml plastic tubes. Aliquots of 1-1.5 ml were studied with an inverted Carl Zeiss Axiovert 100 microscope (Oberkochen, Germany) equipped with 40×/0.60 and 63×/0.90 phase contrast objectives. The entire Utermöhl plate chamber bottom was scanned to look for and isolate living cysts.

Single live cysts were isolated with a micropipette, rinsed with sterile seawater, and placed in 24-well culture plates previously filled with 2 ml GSe (Doblin et al., 1999) or modified f/2 (Bravo & Anderson, 1994) culture media without silicates. After sealing the plates with plastic tape to prevent evaporation, the plates were incubated at 20 ± 3 ºC and 25 ± 1 ºC on a 12:12 h dark:light cycle with light intensity of 40.7 $\mu E\ m^{-2}s^{-1}$.

Cysts were examined regularly under the inverted microscope to detect germination. Experiments in which cysts did not germinate within 15 days were discarded. After germination, vegetative cells were re-isolated and fixed with acidic Lugol's solution. For plate pattern identification, the cells were placed on a slide and treated with a diluted sodium hypochlorite solution and theca stains, trypan blue (Lebour, 1925) and iodine (Imamura & Fukuyo, 1987).

Observations of empty cysts and vegetative cells were first made under bright-field and phase-contrast illumination with the inverted microscope and then with a compound microscope equipped with a 2x U-ECA magnification changer, using 10×/0.25 and 40×/0.65 phase contrast objectives (Olympus BX41, Tokyo, Japan). Photographic records of live and empty cysts and vegetative cells were made with a Media Cybernetics CoolSnap-Pro digital camera (Silver Spring, MD, USA) and Image-Pro Plus version 4.0 (Silver Spring, MD, USA) imaging software.

The names of the Mexican states were abbreviated: Baja California Sur (B.C.S.), Baja California (B.C.), Sonora (Son.), Sinaloa (Sin.), Nayarit (Nay.), Jalisco (Jal.), Colima (Col.), Michoacán (Mich.), Guerrero (Gro.), Oaxaca (Oax.), Chiapas (Chis.), and Veracruz (Ver.). The names of the thecal plates were abbreviated according to the Kofoid tabulation system as follows: first apical plate (1′), first intercalary plate (1a), second intercalary plate (2a), first precingular plate (1″), and second precingular plate (2″). Abbreviations of authors of scientific names were used according to Brummitt and Powell (1992), unless they were not listed in the book.

RESULTS

From cyst germination assays, we observed cyst-theca relationships and germination patterns for five dinoflagellate species. It was not possible to establish cultures from germination assays of the organic-walled Peridinialean cysts; only a few vegetative cells were obtained. Three strains of Gonyaulacales were successfully established and have been maintained since 2002.

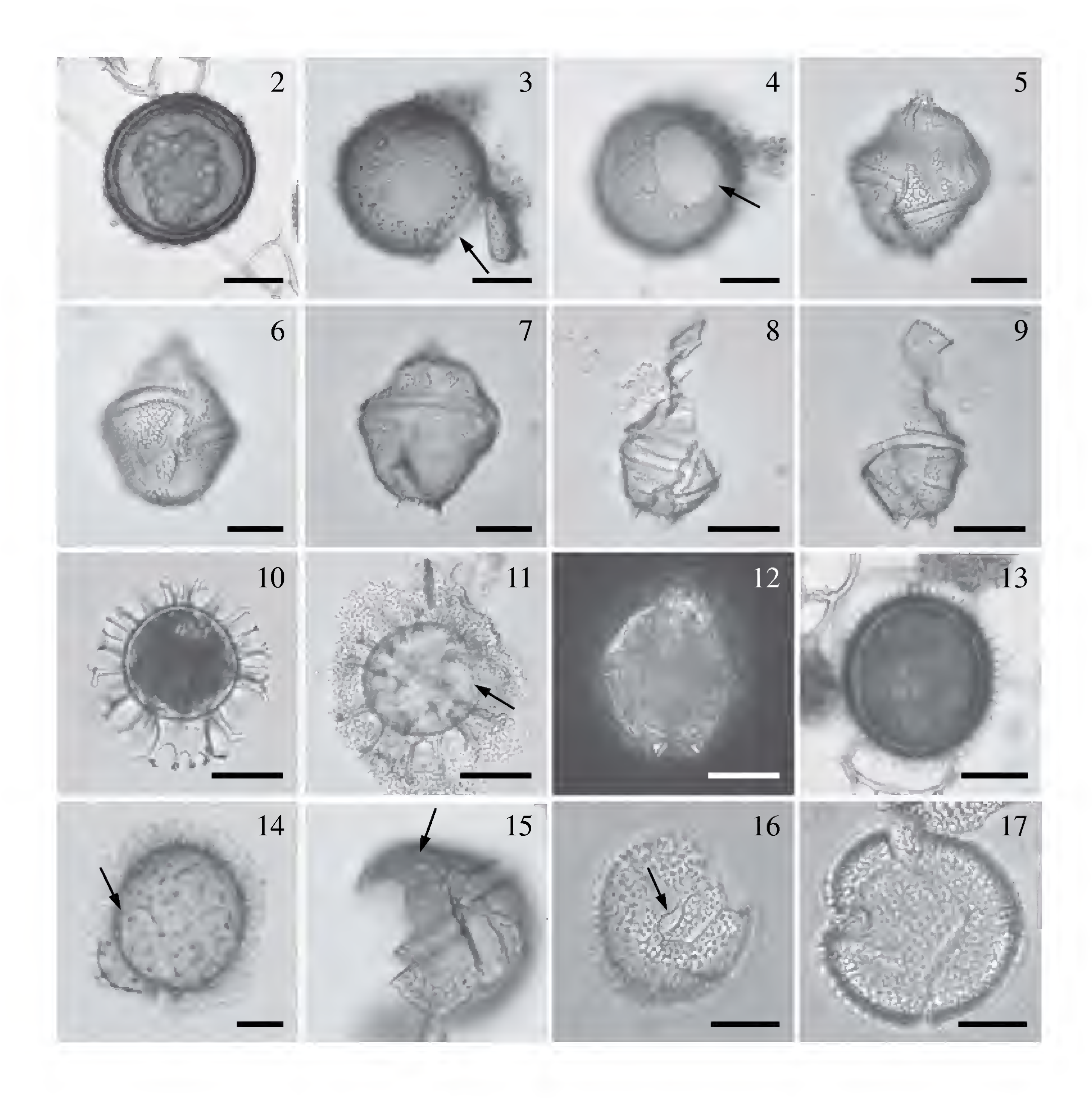
A. Gonyaulacales cyst-theca relationships

Gonyaulax spinifera (Clap. et J. Lachm.) Diesing, 1866 (Figs. 2-12)
Bas.: *Peridinium spiniferum* Clap. et J. Lachm., 1858.

Cyst stage: *Tectatodinium pellitum* are proximate cysts with a spherical body (30.9-49 µm, n = 3), and lack spines (Fig. 2). The cyst wall is weakly pigmented and consists of a thin pedium and a thicker spongy luxuria. The external surface of the luxuria has a roughened texture. The archeopyle is precingular and formed by the loss of the 3″ plate (Figs. 3 and 4). The archeopyle margin is irregular, but with adcingular angles well defined.

Taxonomic note: Germinated cysts match the size and morphological characteristics of the holotype of *T. pellitum* Wall, emended by Head in 1994, as well as with the specimens germinated by Wall & Dale (1968). The slight apical protuberance included by Head (1994) in the emended diagnosis was observed in only some specimens (not shown on the photographic plate).

Motile stage: Cells germinated from *T. pellitum* cysts are conical, large (37-63 µm by 30-50 µm, n = 5), slightly longer than broad with an apical horn and two antapical spines (Figs. 7-9). The sides of the epitheca were straight to convex, form-



Figs. 2-17. Cyst-theca relationships of Gonyaulacales isolated from Holocene sediments in Bahía Concepción in the Gulf of California. (2-9) *Gonyaulax spinifera* germinated from *Tectatodinium pellitum* cyst: (2) living cyst, (3, 4) empty cyst with archeopyle (arrow), (5) vegetative cell in ventral view, (6) vegetative cell showing cingular displacement, (7) vegetative cell in dorsal view, (8, 9) empty theca showing antapical spines. (10-12) *Gonyaulax spinifera* germinated from *Spiniferites mirabilis* cyst: (10) living cyst, (11) empty cyst with archeopyle (arrow), (12) vegetative cell showing antapical spines. (13-17) *Protoceratium globosum*: (13) living cyst, (14) empty cyst with archeopyle (arrow), (15) vegetative cell in dorsal view showing the ventral pore (arrow), (16) epitheca showing the Po plate, (17) hypotheca. Scale bars = 20 μm.

ing broad shoulders at one-third the distance from the apex. The hypotheca have straight sides and rounded antapex. The girdle is deeply excavated, descendent with overhanging ends, displaced by 2 to 3 times its width. The plates are thick and heavily ornamented. It was impossible to culture this species; growth was unstable and irregular and very few vegetative cells survived for a short time.

Taxonomic note: Wall & Dale (1968, pl.1 Figs. 11 and 12) also established the correlation between cysts of *T. pellitum* with *G. spinifera* and cell size and morphological characteristics, particularly the cingulum displacement and presence of two antapical spines, that match the specimens described in this study.

Cyst stage: *Spiniferites mirabilis* is a chorate cyst with an ovoid to spherical central body (35 µm in diameter, n = 1) and a number of vallate, hystricate, and antheriform processes (Figs. 10 and 11). The girdle width was 5.2 µm and the height of the processes 7.9 to 15.7 µm. The antapical region has a prominent flange that extends distally to form several proceses (Fig. 10). The quadrangular archeopyle is located on the dorsal epicyst and reflects the loss of the 3′ pre-cingular paraplate (Fig. 11). The cyst wall is transparent and the cytoplasm has a red stigma that is clearly visible.

Taxonomic note: The morphology of our cyst is very similar to the specimens described by Wall and Dale (1968, Pl. 1 Fig. 10) and Reid (1974, Pl. 4, Figs. 32, 33, and 34), except the size. The germinated cyst from Bahía Concepción is smaller compared with the measurements of 26 × 40 to 42 × 59 µm reported by Reid (1974).

Motile stage: The cell germinated from *S. mirabilis* is rhomboidal (44.5 µm × 38 µm, n = 1) has a short apical horn and a variable number of small antapical spines, two of them prominent (Fig. 12). The girdle is displaced by two girdle widths with an overlap of at least one third of the width of the cell. The thecal plates are heavily ornamented with a reticulated pattern. Culture of this species in GSe medium was successful.

Taxonomic note: Preliminary observations of the theca with light microscopy led to recognition of this dinoflagellate as *G. spinifera*. A scaning electron microscopy analysis will be conducted to corroborate this. *Gonyaulax membranacea* produce cysts very similar to *G. spinifera* (Reid, 1974), therefore a careful observation of the theca, particularly ornamentation and reticulation pattern is needed (Ellegaard et al., 2003).

Distribution in Mexico (based on the motile stage): West coast of Baja California Peninsula, B.C.S., Son., Sin., and Nay. bordering the Gulf of California and Jal., Col., Oax., and Chis. (Okolodkov & Gárate-Lizárraga, 2006) bordering the southwestern coast of Mexico on the Pacific.

Global distribution (based on the motile stage): The *G. spinifera* complex has a panthalassic distribution, having been reported in almost all Arctic marginal seas,

North Atlantic, the Mediterranean, tropical and temperate waters of the Pacific, Atlantic, and Indian oceans, the Drake Passage, and to the NE of the Ross Sea, Antarctica. Cysts may contribute up to 100% of the dinoflagellate cyst assemblages in surface sediments in northern and southern temperate waters and tropical waters (Marret & Zonneveld, 2003).

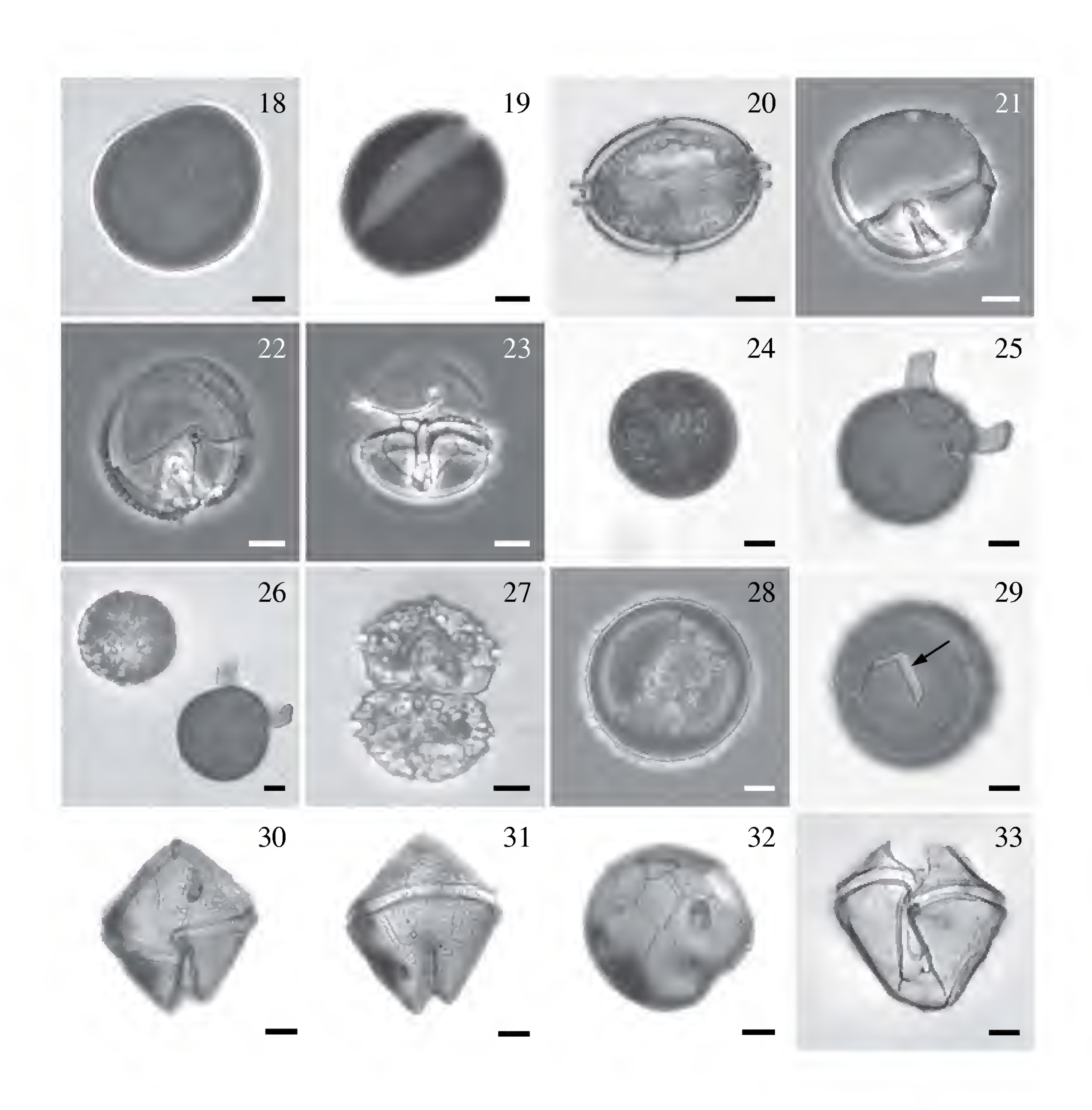
Protoceratium globosum Kof. et J. R. Michener, 1911 (Figs. 13-17)

Cyst stage: Proximochorate type with a spherical body (30-35 µm long, n = 3). The cyst wall is transparent and covered with numerous short (3.3-4.7 µm), transparent, hollow, and wide-based conical processes ending as sharp points (Figs. 13 and 14). The saphopylic archeopyle results from the loss of the 3″ plate. The archeopyle angles are slightly rounded.

Taxonomic note: The cyst of *P. globosum* is very different from *Operculodinium centrocarpum*. The main differences are in shape and length of the processes, as well as the archeopyle shape. In *O. centrocarpum*, the processes are longer and can be slender to stout, with simple capitate or minutely hooked tips, and the archeopyle has a subtriangular to trapezoidal aperture (Wall & Dale, 1968; Reid, 1974; Sonneman & Hill, 1997). Wall & Dale (1968) and Rochon et al. (1999) reported that *Protoceratium reticulatum* produces more than one morphologically distinct kinds of resting spores that correlates with the fossil species *O. centrocapum*, *O. israelianum*, and *O. psilatum*. The latter is different from our specimen, despite possessing processes similar in length (2-3µm), which are fewer and have a girdle zone and ventral sulcal scar that is prominently developed.

Motile stage: The cells are polygonal and rounded (38.5-46.2 µm in diameter, n = 18). The theca is thick and deeply aerolate (Figs. 15-17). The po plate is oval, has a curved cavity, and is surrounded by three apical plates. The girdle displacement about one girdle width. In ventral view, the epitheca shows a large ventral pore on the 1′ plate (Fig. 15). Two strains were successfully established and maintained with GSe nutrient medium.

Taxonomic note: Although Kofoid and Michener (1911) did not illustrate their new species, our specimens are a good match with their description. *P. globosum* differs from *P. denticulatum* in having a more rounded or globular shape (epitheca and hipoteca is more or less equal in size), and the cingulum list are less developed. Okolodkov and Gárate-Lizárraga (2006) also observed these differences and that the intercalary plate is wider in samples collected in several localities along the Mexican Pacific. We identified *P. reticulatum* in Hargraves & Maranda (2002: Fig. 20) and in



Figs. 18-33. Cyst-theca relationships of Peridiniales isolated from Holocene sediments in Bahía Concepción in the Gulf of California. (18-23) *Preperidinium meunieri*: (18) living cyst, (19) empty cyst with archeopyle, (20) vegetative cell in ventral view, (21, 22) epitheca in apical view, (23) sulcal plates. (24-27) *Protoperidinium denticulatum*: (24) living cyst, (25) empty cyst with archeopyle, (26) a newly excysted vegetative cell (45.7 × 42.3 µm) with flagella completely developed and swam slowly near the empty cyst, (27) a pair of vegetative cells in dorsal view. (28-33) *Protoperidinium* cf. *thorianum*: (28) living cyst, (29) empty cyst with archeopyle (arrow), (30, 31) vegetative cell in ventral and dorsal views, (32) epitheca, (33) sulcal plates. Scale bars = 10 µm.

Vargas-Montero and Freer (2002: Fig. 4A) and *Gonyaulax grindleyi* in Faust et al. (2005: Figs. 2-5) as *P. globosum*.

Distribution in Mexico (based on the motile stage): Okolodkov & Gárate-Lizárraga (2006) reported *P. globosum* from Jal., Col., Mich, Gro., and Oax.

Global distribution: This is unknown. The species has been reported and documented with illustrations from the northeastern coast of the United States, Costa Rica, and the Mexican coast on the Pacific (Hargraves & Maranda, 2002; Vargas-Montero & Freer, 2002; Faust et al., 2005; Okolodkov & Gárate-Lizárraga, 2006).

B. Peridiniales cyst-theca relationships

Preperidinium meunieri (Pavill.) Elbr., 1993 (Figs. 18-23)
Bas.: *Peridinium meunieri* Pavill., 1912; non *Peridinium meunieri* N. Peters, 1930.
Tax. syn.: *Diplopsalis lenticula* (Bergh) f. *minor* Paulsen, 1907; *Peridinium lenticulatum* L. Mangin, 1911; *Peridinium paulseni* L. Mangin, 1911; *Diplopeltopsis minor* (Paulsen) Pavill., 1913; *Diplopsalis minor* (Paulsen) Paulsen, 1930; *Glenodinium lenticula* (Bergh) Pouchet f. *minor* (Paulsen) J. Schill., 1937; *Zygabikodinium lenticulatum* Loebl. et A. R. Loebl., 1970; *Dubridinium caperatum* P. C. Reid, 1977 (cyst stage); *Diplopsalopsis minor* (Paulsen) T. H. Abé, 1981.

Cyst stage: The *Dubridinium caperatum* cyst is lenticular in ventral view, dark brown in color (Figs. 18 and 19), parasulcus and paracingulum, and apical pore complex are easily observed (not shown in the photographic plate). The cyst wall consists of a loose, thin, wrinkled outer layer and a thicker, inner layer with a finely granulated surface. The archeopyle is theropylic; the operculum comprises all of the epicystal paraplates and always remains attached (Fig. 19). Length 35-48 µm, width 41-54 µm (n = 5).

Taxonomic note: The general characteristics and dimensions of the cysts and archeopyle match descriptions given by Wall & Dale (1968) and Sonneman & Hill (1997).

Motile stage: The cell is lenticular in ventral view and circular in apical view. The pitheca and hypotheca are similar in size and shape (Fig. 20). The 1′ plate is *ortho*, with the anterior triangle longer than the posterior one. The 1a plate is small and rhomboid, while the 2a plate is large, occupying almost half of the epitheca (Fig. 21). The pore complex consists of an elliptical pore plate and a small rectangular canal plate. The cingulum is circular, planozone, with well developed lists and ribs. Some

cells show unusual sutures (Figs. 21 and 23). Plate formula: Po, x, 3′, 2a, 7″, 3c, 5s, 5‴, 1⁗ Length 26-36 µm, width 43-54 µm, depth 42-50 µm (n = 3).

Taxonomic note: Infraspecific variations in tabulation pattern of *P. meunieri* are likely related to accidental events during ontogenesis and were observed (not shown).

Distribution in Mexico (based on the motile stage): Gulf of California (B.C.S.), Jal. (Morquecho & Lechuga-Devéze, 2003, 2004; Okolodkov & Gárate-Lizárraga, 2006).

Global distribution: A panthalassic species reported from the Arctic Ocean, Chukchi, Kara, Barents, and White Seas, northoreast Atlantic, Baltic, North, Black, and Mediterranean Seas, tropical areas of the Pacific, Atlantic, and Indian Oceans, Australian and Argentinian coastal waters, the Bellinghausen, Weddell, and Ross Seas (Okolodkov, 1998; unpubl. observ.).

Protoperidinium denticulatum (Gran et Braarud) Balech, 1974 (Figs. 24-27)
Bas.: *Peridinium denticulatum* Gran et Braarud, 1935.

Cyst stage: *Brigantedinium irregulare* cyst is spherical, smooth, and dark brown in color (Fig. 24). The archeopyle is theropylic, hexagonal, laterally elongated, and formed by the loss of the 1a and 2a paraplates (Fig. 25). Diameter 40-45 µm (n = 2). Germination occurred 62 h after isolation and inoculation (Fig. 26).

Motile stage: Asexual cell division resulted in unequal vegetative cells of *P. denticulatum* (Fig. 26). It has a pentagonal shape in ventral view, that is short and wide. The epitheca is conical, with a wide base and almost straight sides and a distinctive slit grove at the apex. The 1′ plate is *ortho*; there are only two intercalary plates. The girdle cavozone, with descending one girdle-width displacement. The sulcus is deep. Cells frequently occur in pairs (Fig. 27). Length 23.8 µm, width 39.4 µm (n = 2).

Taxonomic note: The morphological characteristics of the cyst of *P. denticulatum* from Bahía Concepción closely match the descriptions given by Gran & Braarud (1935), Wall & Dale (1968), and Sonneman & Hill (1997). The first authors also germinated cysts and obtained paired cells morphologically very similar to those described in this study. However, the cells reported by Wall & Dale (1968) are longer (50-60 µm).

Distribution in Mexico: Cysts: Bahía Concepción, Gulf of California (Morquecho & Lechuga-Devéze, 2003). Motile stage: Cabo Corrientes, Jal. (Okolodkov & Gárate-Lizárraga, 2006), Ver., Gulf of Mexico (Okolodkov, 2008).

Global distribution (based on the motile stage and cysts): Neritic, broad ranging species in the North Atlantic, Laptev and Chukchi Seas in the Arctic, Sea of Japan, Chinese coastal waters, southern Gulf of Mexico, the Mexican subtropical and tropical Pacific and the SW Atlantic (Balech, 1988; Nehring, 1994, 1995, 1997a,b; McQuoid et al., 2002; Wang et al., 2004a,b).

Protoperidinium cf. *thorianum* (Paulsen) Balech, 1974 (Figs. 28-33)

Cyst stage: Spherical, not ornamented, dark brown color (Fig. 28). The archeopyle theropylic, hexagonal; operculum remains attached (Fig. 29). Diameter 58 μm (n = 1).

Taxonomic note: Cyst of *P. thorianum* described by Sonneman and Hill (1997) is morphologicaly similar to specimen in this study. Similarly, the operculum remains attached to the cyst and the diameter of the specimen from Bahía Concepción approximates the size mentioned by these authors (45-55 μm).

Motile stage: Pentagonal in ventral view, it has conical epitheca and hypotheca with two short conical horns. The 1′ plate is *ortho*; its right suture is longer than the left one and is curved near the cingulum (Figs. 30 and 31). Only two intercalary plates are present, hexagonal and similar in size. The pore plate is long, elliptic, extending into the 3′ plate and the canal plate is as long as the pore plate (Fig. 32). Girdle cavozone, descending, with a two girdle width displacement and slightly overhanging ends. The sulcus is deep (Fig. 33). Length 57 μm, width 54 μm (n = 1).

Taxonomic note: The vegetative cell of *P.* cf. *thorianum* that we examined is similar to the original description of *P. thorianum* in its tabulation pattern and the right suture of the 1′ plate. However, our specimen lacks a papillated surface and has a deeper sulcus. This variation suggests that our specimen represents a variety of the species; confirmation with cyst germination assays should be done. The vegetative stage of *P. thorianum* has been reported in the Gulf of California only by Licea-Durán et al. (1995) and Hernández-Becerril (1988, 1991). It can be confused with *P. avellana,* which does not have a rugose surface and has a narrower sulcus and a median cingulum (Steidinger & Tangen 1997). Additionally, the archeopyle in the *P. avellana* cyst has a characteristic hexagonal form, which is an important taxonomic feature.

Distribution in Mexico (based on the motile stage): *Protoperidinium thorianum* occurs in the Gulf of California (B.C.S., Sin.), and Jal. and Mich. along the Pacific (Okolodkov & Gárate-Lizárraga, 2006).

Global distribution (based on the motile stage): *P. thorianum* is a neritic cosmopolitan species found from Tierra de Fuego to Baffin Bay in the Atlantic, from

southeast Australia to the Bering Strait in the Pacific, from Greenland across to Alaska in the Eurasian arctic, and in the northern Indian Ocean (Dogde, 1982; Sonneman & Hill, 1997; Steidinger & Tangen, 1997).

DISCUSSION

Gonyaulacales and Peridiniales are among the most important microphytoplankton components globally (Gómez, 2005). The taxonomy of these orders is particularly difficult, but studies of cyst-theca relationships have greatly helped to define species composition in several places around the world (Lewis, 1990; Zonneveld & Dale 1994; Montresor et al., 1997; Kremp, 2000; Ellegaard et al., 2002; Matsuoka et al., 2006). The photographic record of germination patterns presented in this survey is of particular importance. It documents, for the first time, *Protoceratium globosum* as a cyst-producing species. Additionally, confirming the *Protoperidinium denticulatum* cyst-theca relationship allowed us to demonstrate cyst viability and presence of the vegetative stage in the Gulf of California.

Morquecho & Lechuga-Devéze (2003) reported empty cysts of *P. denticulatum* in Bahía Concepción; therefore, the global distribution of this species also includes subtropical areas. The vegetative stage of *P. denticulatum* is extremely rare along the Mexican coast of the Pacific; formerly found in phytoplankton samples collected at Cabo Corrientes (Okolodkov & Gárate-Lizárraga, 2006). This species appears to have spread to new areas, where it exists for only a short time in the motile stage before encysting rapidly and spending most of the time in the cyst stage.

The germination assays let us demonstrate heterospory in the resting stage of *Gonyaulax spinifera* from Bahía Concepción because more than one cyst was attributed to this species. However, it is clear that an accurate taxonomic revision involving scanning electron microscopy, molecular biology, and life cycle studies are required (see Matsuoka et al., 2006). Because of so-called heterospory, the resting stage of *G. spinifera* has received several paleontological names, including *Spiniferites mirabilis*, *Tectatodinium pellitum*, *Nematosphaeropsis labyrinthus*, *Bitectatodinium tepikiense*. Even more cysts with other paleontological names are related with the *G. spinifera* complex as a biological affinity (Head, 1996; Rochon et al., 1999). However, the names cannot be synonymous because the taxa produce morphologically different types of cysts that most likely correspond to different species of the *G. spinifera* complex (Martin J. Head, pers. comm., February 2007). Ellegaard et al. (2003) demonstrated that motile stages obtained from germinating several *Spinife-*

rites cysts and *B. tepikiense*, which were previously attributed to the *G. spinifera* complex, belong to distinct species of the genus *Gonyaulax*, which in the motile stage, show small morphological differences, but relatively high genetic divergence.

For cyst germination assays, it is important to consider the culture media for heterotrophic dinoflagellates; some species require organic compounds that could be supplied with the addition of specific chemical substances (urea or glycerol) or the use of live food, such as other algae (diatoms and cynobacteria). In this survey, in all the cases where organic-walled Peridiniales cysts germinated, successive division of vegetative cells failed and only survived for a few days. Additionaly, it was impossible to examine the theca of *G. spinifera* germinated from *T. pellitum*, *P. denticulatum*, and *P.* cf. *thorianum* in detail because establishing the culture failed. Similar inconveniencies were also reported by Ellegaard et al. (2003), in cultures of *Gonyaulax* species that showed only short periods of survival. Additionally, the empty cysts of *P. globosum* were lost when we tried to isolate them from the multidish plate. Cultures that are successfully established would permit experiments to induce cyst production for accurately describing their morphology and study the vegetative growth and influence of temperature and salinity on cyst morphology.

Spherical brownish and Gonyaulacales cysts in sediments of Bahía Concepción are a component of the cyst assemblage and contribute to diversity of dinoflagellate species in the bay and the Gulf (Martínez-Hernández & Hernández-Campos, 1991; Morquecho & Lechuga-Devéze, 2003). In this survey and the initial research of Morquecho & Lechuga-Devéze (2003), only ten particular cyst-theca relationships were described. However, it is highly probable that other unreported species with similar morphotypes exist.

In summary, this survey presents qualitative features of cysts within the orders Gonyaulacales and Peridiniales found in an important bay within the Gulf of California. Establishing the cyst-theca relationships and the illustrations of the germination patterns provide useful taxonomic information on dinoflagellate species from the Gulf of California. It is clear that a complementary study involving culturing of these species under controlled conditions, molecular techniques, scanning electron microscopy, and life cycle description is needed.

ACKNOWLEDGMENTS

We appreciate the field and laboratory work of Iban Murrillo, Francisco Hernández, and Felipe Zapata. Malte Elbrächter at Deutsches Zentrum für Marine Biodiver-

sitätsforschung, Forschungsinstitut Senkenberg, Germany and Martin J. Head from Brock University, St. Catharines, Ontario, Canada provided important suggestions to improve the manuscript, as did the anonymous reviewers. Marcia M. Gowing at the University of California at Santa Cruz kindly improved the text. Boris Okolodkov assisted in preparing a map of sampling sites. This survey was supported by Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología of Mexico (CONACYT grant R33598-B).

LITERATURE CITED

Balech, E. 1988. Los dinoflagelados del Atlántico sudoccidental. Publicaciones Especiales del Instituto Español de Oceanografia. No. 1. Madrid. 310 pp.

Bolch, C. J., S. I. Blackburn, J. A. Cannon & G. M. Hallegraeff. 1991. The resting cyst of the red-tide dinoflagellate *Alexandrium minutum* (Dinophyceae). Phycologia 30(2): 215-219.

Bravo, I. & D. M. Anderson. 1994. The effects of temperature, growth medium and darkness on excystment and growth of the toxic dinoflagellate *Gymnodinium catenatum* from northwest Spain. J. Plankton Res. 16(5): 513-525.

Brummitt, R. K. & C. E. Powell (eds.). 1992. Authors of plant names. A list of authors of scientific names of plants with recommended standard forms of their names, including abbreviations. Royal Bot. Gardens. Kew. United Kingdom. 732 pp.

Dale, B. 1983. Dinoflagellate resting cysts: benthic plankton. In: Fryxell, G. A. (ed.). Survival strategies of the algae. Cambridge Univ. Press. Cambridge. pp. 69-136.

Doblin, M. A., S. I. Blackburn & G. M. Hallegraeff. 1999. Comparative study of selenium requirements of three phytoplankton species: *Gymnodinium catenatum*, *Alexandrium minutum* (Dinophyta) and *Chaetoceros* cf. *tenuissimus* (Bacillariophyta). J. Plankton Res. 21(6): 1153-1169.

Dodge, J. D. 1982. Marine dinoflagellates of the British Isles. HM Stat. Office. London. 303 pp.

Ellegaard, M., B. Dale & A. Amorim. 2001. The acritarchous cyst of the athecate dinoflagellate *Warnowia* cf. *rosea* (Dinophyceae). Phycologia 40(6): 542-546.

Ellegaard, M., J. Lewis & I. Harding. 2002. Cyst-theca relationship, life cycle, and effect of temperature and salinity on the cyst morphology of *Gonyaulax baltica* sp. nov. (Dinophyceae) from the Baltic Sea area J. Phycol. 38(4): 775-789.

Ellegaard, M., N. Daugbjerg, A. Rochon, J. Lewis & I. Harding. 2003. Morphological and LSU rDNA sequence variation within the *Gonyaulax spinifera-Spiniferites* group (Dinophyceae) and proposal of *G. elongata* comb. nov. and *G. membranacea* comb. nov. Phycologia 42(2): 151-164.

Faust, M. A., R. W. Litaker, M. W. Vandersea, S. R. Kibler & P. A. Tester. 2005. Dinoflagellate diversity and abundance in two Belizean coral-reef mangrove lagoons: a test of Margalef's Mandala. Atoll Res. Bull. 534: 105-131.

Fensome, R. A., F. J. R. Taylor, G. Norris, W. A. S. Sarjeant, D. I. Wharton & G. L. Williams. 1993. A classification of living and fossil dinoflagellates. Micropaleontology Special Papers. Sheridan Press. Hanover, PA. 351 pp.

Gómez, F. 2005. A list of free-living dinoflagellate species in the world's oceans. Acta Bot. Croat. 64(1): 129-212.

Gran, H. H. & T. Braarud. 1935. A quantitative study of the phytoplankton in the Bay of Fundy and the Gulf of Maine (including observations on hydrography, chemistry and tubidity). J. Biol. Board. Can. 1(5): 279-467.

Hallegraeff, G. M. & C. J. Bolch. 1992. Transport of diatom and dinoflagellate resting spores in ships' ballast water: implications for plankton biogeography and aquaculture. J. Plankton Res. 14(8): 1067-1084.

Hargraves, P. E. & L. Maranda. 2002. Potentially toxic or harmful microalgae from the northeast coast. Northeast. Nat. 9(1): 81-120.

Head, M. 1994. Morphology and paleoenvironmental significance of the Cenozoic dinoflagellate genera *Tectatodinium* and *Habibacysta*. Micropaleontology 40(4): 289-321.

Head, M. J. 1996. Modern dinoflagellate cysts and their biological affinities. In: Jansonius, J. & D. C. McGregor (eds.). Palynology: principles and applications. American Association of Stratigraphic Palynologists Foundation. Dallas, Texas. Vol. 3. pp. 1197-1248.

Hernández-Becerril, D. U. 1988. Especies de fitoplancton tropical del Pacífico Mexicano. II. Dinoflagelados y Cianobacterias. Rev. Lat-amer. Microbiol. 30(2): 187-196.

Hernández-Becerril, D. U. 1991. *Protoperidinium* (Dinophyceae) species in the Gulf of California and off the coasts of Baja California. An. Inst. Cienc. del Mar y Limnol. 18(1): 77-88.

Imamura, K. & Y. Fukuyo. 1987. Method for observation of theca plates of armored dinoflagellates. A guide for studies of red tide organisms. Japan Fisheries Resources Conservation Association Shuwa. Tokyo. pp. 54-73.

Kofoid, C. A. & J. R. Michener. 1911. Reports of the scientific results of the expedition to the eastern tropical Pacific in charge of Alexandre Agassiz, 22. New genera and species of dinoflagellates. Bull. Mus. Comp. Zool. Harv. Coll. 54: 267-302.

Kokinos, J. P. & D. M. Anderson. 1995. Morphological development of resting cysts in cultures of the marine dinoflagellate *Lingulodinium polyedrum* (= *L. machaerophorum*). Palynology 19: 143-166.

Kremp, A. 2000. Morphology and germination pattern of the resting cysts of *Peridiniella catenata* (Dinophyceae) from the Baltic Sea. Phycologia 39(3): 183-186.

Lebour, M. V. 1925. The dinoflagellates of northern seas. Marine Biological Association of the United Kingdom. Plymouth, United Kingdom. 250 pp.

Lechuga-Devéze, C. H., A. Reyes-Salinas & M. L. Morquecho-Escamilla. 2001. Anoxia in a coastal bay: a case of study of a seasonal event. Rev. Biol. Trop. 49(2): 525-534.

Lewis, J, A. Rochon & I. Harding. 1999. Preliminary observations of cyst-theca relationships in *Spiniferites ramosus* and *Spiniferites membranaceus* (Dinophyceae). Grana Suppl. 3: 1-12.

Lewis, J. 1990. The cyst-theca relationship of *Oblea rotunda* (Diplopsalidaceae, Dinophyceae). Br. Phycol. J. 25(1): 339-351.

Licea-Durán, S., J. L. Moreno-Ruiz, H. Santoyo-Reyes & G. Figueroa. 1995. Dinoflagelados del Golfo de California. Universidad Autónoma de Baja California Sur, Secretaría de Educación Pública, Fondo para la Modernización de la Educación Superior, Programa Interdisciplinario e Insterinstitucional del Mar de Cortés. México, D.F. 165 pp.

Marret, F. & K. Zonneveld. 2003. Atlas of modern organic-walled dinoflagellate cyst distribution. Rev. Palaeobot. Palynol. 125(1-2): 1-200.

Martínez-Hernández, E. & H. Hernández-Campos. 1991. Distribución de quistes de dinoflagelados y acritarcas en sedimentos holocénicos del Golfo de California. Paleontol. Mex. 57: 1-133.

Matsuoka, K., Y. Fukuyo & D. M. Anderson. 1989. Methods for modern dinoflagellate cysts studies. In: Okachi, T., D. M. Anderson & T. Nemoto (eds.). Red tides: biology, environmental science and toxicology. Elsevier. New York. pp. 461-480.

Matsuoka, K. & Y. Fukuyo. 2000. Guía técnica para el estudio de quistes de dinoflagelados actuales. WESTPAC-HAB/ WESTPAC /IOC. Tokyo. 30 pp.

Matsuoka, K., H. Kawami, R. Fujii & M. Iwataki. 2006. Further examination of the cyst-theca relationship of *Protoperidinium thulesense* (Peridiniales, Dinophyceae) and the phylogenetic significance of round brown cysts. Phycologia 45(6): 632-641.

McQuoid, M., A. Godhe & K. Nordberg. 2002. Viability of phytoplankton resting stages in the sediments of a coastal Swedish fjord. Eur. J. Phycol. 37(2): 191-201.

Meldahl, K. H., O. González-Yajimovich, C. D. Empedocles, C. S. Gustafson, M. Motolinia-Hidalgo & T. W. Reardon. 1997. Holocene sediments and molluscan faunas of Bahía Concepción: a modern analog to Neocene rift basins of the Gulf of California. In: Johnson, M. E. & J. Ledesma-Vázquez (eds.). Pliocene carbonates and related facies flanking the Gulf of California, Mexico. Geological Society of America. Special Paper 318. pp. 39-56.

Montresor, M., A. Zingone & D. Marino. 1993. The calcareous resting cyst of *Pentapharsodinium tyrrhenicum* comb. nov. (Dinophyceae). J. Phycol. 29(2): 223-230.

Montresor, M., D. Janofske & H.Willem. 1997. The cyst-theca relationship in *Calciodinellum operosum* emend. (Peridiniales, Dinophyceae) and a new approach for the study of calcareous cysts. J. Phycol. 33(1): 122-131.

Morquecho, L. & C. H. Lechuga-Devéze. 2003. Dinoflagellate cysts in Recent sediments from Bahía Concepción, Gulf of Mexico. Bot. Mar. 46(2): 132-141.

Morquecho, L. & C. H. Lechuga-Devéze. 2004. Seasonal occurrence of plankton dinoflagellates and cyst production in relationship to environmental variables in subtropical Bahía Concepción, Gulf of California. Bot. Mar. 47(4): 313-22.

Nehring, S. 1994. Spatial distribution of dinoflagellate resting cysts in recent sediments of Kiel Bight, Germany (Baltic Sea). Ophelia 39(2): 137-58.

Nehring, S. 1995. Dinoflagellate resting cysts as factors in phytoplankton ecology of the North Sea. Helgol. Meeresunters 49(1-4): 375-392.

Nehring, S. 1997a. Dinoflagellate resting cysts from recent German coastal sediments. Bot. Mar. 40(4): 307-324.

Nehring, S. 1997b. Dinoflagellate resting cysts in recent sediments of the western Baltic as indicators for the occurrence of "non-indigenous" species in the water column. Proceedings of the 13th Baltic Marine Biologists Symposium. Jurmala, Latvia. pp. 79-85.

Okolodkov, Y. B. 1998. A checklist of dinoflagellates recorded from the Russian arctic seas. Sarsia 83(4): 267-292.

Okolodkov, Y. B. 2002. The genus *Protoperidinium* Bergh in the Mexican Pacific. XII Reunión Nacional de la Sociedad Mexicana de Planctología y V International Meeting of the Mexican Society of Planktology. Xalapa, Veracruz, México. p. 68.

Okolodkov, Y. B. 2005. *Protoperidinium* Bergh (Dinoflagellata) in the southeastern Mexican Pacific Ocean: part I. Bot. Mar. 48(4): 284-296.

Okolodkov, Y. B. 2008. *Protoperidinium* Bergh (Dinophyceae) of the National Park Sistema Arrecifal Veracruzano, Gulf of Mexico, with a key for identification. Acta Bot. Mex. 84: 93-149.

Okolodkov, Y. B., M. E. Meave del Castillo & M. E. Zamudio-Reséndiz. 2003. Diversidad de dinoflagelados planctónicos en el Pacífico Mexicano. Resúmenes de los trabajos presentados en el IV Congreso Mexicano de Ficología. Mérida, Yucatán, México. No. 137. p. 79.

Okolodkov, Y. B. & I. Gárate-Lizárraga. 2006. An annotated checklist of dinoflagellates (Dinophyceae) from the Mexican Pacific. Acta Bot. Mex. 74: 1-154.

Peña-Manjarrez, J. L., J. Helenes-Escamilla, G. Gaxiola-Castro & E. Orellana-Cepeda. 2005. Dinoflagellate cysts and bloom events at Todos Santos Bay, Baja California, México, 1999-2000. Cont. Shelf Res. 25: 1375-1393.

Reid, P. C. 1974. Gonyaulacacean dinoflagellate cysts from the British Isles. Nova Hedwigia 25: 579-637.

Rochon, A., A de Vernal, J. L. Turon, J. Matthiessen & M. J. Head. 1999. Distribution of recent dinoflagellate cysts in surface sediments from the North Atlantic Ocean and adjacent seas in relation to sea-surface parameters. American Association of Stratigraphic Palynologists Contribution Series 35: 1-146.

Sonneman, J. A. & D. R. A. Hill. 1997. A taxonomic survey of cyst-producing dinoflagellates from recent sediments of Victorian coastal waters, Australia. Bot. Mar. 40(3): 149-77.

Steidinger, K. & K. Tangen. 1997. Dinoflagellates. In: Tomas, C. R. (ed.). Identifying marine phytoplankton. Acad. Press, Inc. San Diego, California. pp. 387-589.

Taylor, F. J. R. & G. Gaines. 1989. Dinoflagellate cyst morphology: an analysis based on laboratory observations of encystment. In: Okaichi, T., D. M. Anderson & T. Nemoto (eds.). Red tides: biology, environmental science, and toxicology. Elsevier. New York. pp. 295-296.

Vargas-Montero, M. & E. Freer. 2002. Descripción morfológica y ultraestructural de floraciones algales nocivas en el Golfo de Nicoya, Costa Rica y su impacto en la salud. Rev. Costarric. Cienc. Méd. 23(3-4): 115-132.

Wall, D. & B. Dale. 1966. "Living fossils" in Western Atlantic plankton. Nature 211: 1025-1026.

Wall, D. & B. Dale. 1968. Modern dinoflagellate cysts and evolution of the Peridiniales. Micropaleontology 14(3): 265-304.

Wang, Z., K. Matsuoka, Y. Qi & J. Chen. 2004a. Dinoflagellate cysts in recent sediments from Chinese coastal waters. Mar. Ecol. 25(4): 289-311.

Wang, Z., Y. Qi, S. Lu, Y. Wang & K. Matsuoka. 2004b. Seasonal distribution of dinoflagellate resting cysts in surface sediments from Changjiang River Estuary. Phycol. Res. 52(4): 387-395.

Zonneveld, K. A. F. & B. Dale. 1994. The cyst-motile stage relationships of *Protoperidinium monospinum* (Paulsen) Zonneveld et Dale comb. nov. and *Gonyaulax verior* (Dinophyta, Dinophyceae) from the Oslo Fjord (Norway). Phycologia 33(5): 359-368.

Recibido en diciembre de 2007.

Aceptado en marzo de 2009.



Acta Botanica Mexicana 88: 31-45 (2009)

PRIMER REGISTRO DE LA DIATOMEA EPIBIONTE *PSEUDOHIMANTIDIUM PACIFICUM* Y DE OTRAS ASOCIACIONES SIMBIÓTICAS EN EL GOLFO DE CALIFORNIA

Ismael Gárate-Lizárraga[1] y María del Socorro Muñetón-Gómez[1,2]

[1]Instituto Politécnico Nacional, Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas, Departamento de Plancton y Ecología Marina, Avenida Instituto Politécnico Nacional s/n, Colonia Playa Palo de Santa Rita, Apdo. postal 592, 23096 La Paz, Baja California Sur, México. igarate@ipn.mx; igarateipn@yahoo.com.mx
[2]Centro de Estudios Tecnológicos del Mar núm. 4, Avenida Instituto Politécnico Nacional y Calle Cetmar s/n, Colonia Playa Palo de Santa Rita, Apdo. postal 585, 23096 La Paz, Baja California Sur, México. mmunetong@ipn.mx

RESUMEN

En México existe poca información sobre las asociaciones simbióticas entre diatomeas y ciliados, así como con otras especies de microalgas y particularmente con crustáceos planctónicos marinos. Es por ello que en este trabajo se presenta el primer registro de la diatomea *Pseudohimantidium pacificum* en epibiosis con el copépodo *Farranula gibbula* y otras asociaciones entre microalgas y ciliados marinos en la Bahía de La Paz. Las muestras biológicas se recolectaron mediante una red de plancton con una luz de malla de 20 µm, en diversas áreas de la Bahía de La Paz. Se encontraron 62 copépodos machos de *F. gibbula*, de los cuales 27 presentaban sobre su caparazón un ramillete compuesto por la diatomea epibionte *P. pacificum.* Los valores promedio de abundancia de *P. pacificum* por estación de muestreo variaron entre 16 y 82 ejemplares/copépodo. Otras diatomeas penales fueron observadas como epibiontes de copépodos del género *Acartia*. Asimismo se encontraron asociaciones simbióticas adicionales entre ciliados, microalgas y cianobacterias, destacando las siguientes: *Chaetoceros coarctatum-Vorticella oceanica*, *Leptocylindrus mediterraneus-Solenicola setigera.* Se registra por primera vez la agrupación entre la diatomea *Fragilariopsis doliolus* y el silicoflagelado *Dictyocha pentagona* con un ciliado de tipo *Vorticella*.

Palabras clave: copépodos, epibionte, *Farranula gibbula,* Golfo de California, microalgas, *Pseudohimantidium pacificum.*

ABSTRACT

In Mexico there is little information about the symbiotic associations among diatoms on other marine microalgae and particularly, ciliates and marine planktonic crustaceans. For that reason, we report the first record of the epizoic symbiosis between the copepod *Farranula gibbula* and the diatom *Pseudohimantidium pacificum* as well as other microalgae associations with marine ciliates in Bahía de La Paz. Biological samples were collected using a 20-µm mesh plankton net in six sampling sites in Bahía de La Paz. Sixty-two male copepods of *F. gibbula* were found. From these, 27 specimens showed a bouquet composed of the diatom *P. pacificum* on its carapace. Average abundance values of *P. pacificum* for each sampling station ranged from 16 to 82 diatoms per copepod. Pennate diatoms were observed as epibionts on copepods belonging to the genus *Acartia*. In addition, other symbiotic relationships among ciliates, microalgae and cianobacteria were also encountered, outstanding the following ones: *Chaetoceros coarctatum-Vorticella oceanica*, *Leptocylindrus mediterraneus-Solenicola setigera*. The association between the diatom *Fragilariopsis doliolus* and the silicoflagellate *Dictyocha pentagona* with a *Vorticella*-like ciliate is reported for the first time.

Keywords: copepods, epibiont, *Farranula gibbula,* Gulf of California, microalgae, *Pseudohimantidium pacificum.*

INTRODUCCIÓN

La epibiosis es un tipo de simbiosis en la que un organismo vive sobre la capa superficial del otro. A estos organismos no parásitos, que viven por lo menos una fase de su ciclo vital encima de otro de mayor tamaño, al cual generalmente no le causa ningún problema, se les llama epibiontes (Lincoln et al., 1995). Los caparazones de algunos crustáceos marinos a menudo sirven de sustrato a diversas especies de algas, virus, u hongos (Green, 1974; Ho y Perkins, 1985). La presencia de algunas diatomeas y ciliados como epibiontes sobre los exoesqueletos de organismos zooplanctónicos es un fenómeno común en los copépodos marinos (Hiromi et al., 1985; Carman y Dobbs, 1997; Ohtsuka et al., 2004). Aunque esta relación ha sido documentada desde el siglo IX, se ha puesto poca atención a tal tipo de interacciones (Hiromi et al., 1985).

Entre las principales especies de diatomeas epibiontes sobre copépodos marinos se encuentran *Pseudohimantidium pacificum* Hustedt & Krasske, *Falcula hya-*

lina Takano, *Sceptronema orientale* Takano y *Licmophora unidenticulata* Takano (Gibson, 1978; Takano, 1983; González y Vergara, 1984; Hiromi et al., 1985). *P. pacificum* fue descrita por primera vez para las costas chilenas (20º39' S, 70º20' W) (Krasske, 1941) y posteriormente fue registrada para otras regiones del mundo (Simonsen, 1970; 1974). Sin embargo, para México no existen registros de esta especie, ya que los diferentes estudios que se han realizado sobre diatomeas epibiontes han sido con referencia a pastos y macroalgas marinas (Siqueiros-Beltrones et al., 1985, 2002; Siqueiros-Beltrones y Argumedo-Hernández 2005).

Por otra parte, las asociaciones simbióticas entre diatomeas y dinoflagelados con otros organismos del plancton son comunes en aguas del Golfo de California, siendo en su mayoría casos de epifitismo y en menor proporción de endosimbiosis (Cupp, 1943; Gárate-Lizárraga et al., 1990, 2008; Gárate-Lizárraga y Siqueiros-Beltrones, 1998; Alonso-Rodríguez et al., 2003; Gárate-Lizárraga y Martínez-López, 2004) y parasitismo (Gárate-Lizárraga y Siqueiros-Beltrones, 2003; Gárate-Lizárraga et al., 2006; Coats et al., 2008).

Este estudio es una contribución parcial de los resultados obtenidos del monitoreo que el grupo de Fitoplancton del Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas (CICIMAR) realizó mensualmente en la Bahía de La Paz, en el Golfo de California, durante el periodo comprendido entre 2006 y 2008 en tres estaciones de muestreo fijas, y cuyo objetivo es dar a conocer el primer caso de epizoismo de la diatomea *P. pacificum* sobre el copépodo *Farranula gibbula*, de otras diatomeas sobre copépodos, así como de algunas relaciones simbióticas adicionales encontradas en las aguas de la bahía.

ÁREA DE ESTUDIO

La Bahía de La Paz está ubicada sobre el margen suroriental de la Península de Baja California entre los 24º10' - 24º47' N y los 110º20' - 110º44' W (Fig. 1), con un área aproximada de 2635 km^2 (Cruz-Orozco et al., 1989). El promedio anual de la temperatura del agua en la Bahía de La Paz, es de 24.7 ºC con un intervalo de 20 a 29.5 ºC. La salinidad media es de 36 ppm (Villaseñor-Casales, 1979) en función del hecho de que no existen aportes de agua dulce en el área y la evaporación se intensifica en el período cálido. La bahía está protegida por la Isla San José al norte y al este por el archipiélago de las Islas Espíritu Santo (De Silva-Dávila y Palomares-García, 2002). Se comunica con el Golfo de California por medio de dos bocas, una al noreste (Boca grande) y otra al este (Boca chica o Canal de San Lorenzo).

MÉTODOS

Las muestras utilizadas para este estudio en particular fueron recolectadas del 13 al 16 de diciembre del 2006 en seis estaciones (Fig. 1). En los meses de enero de 2007 y febrero, septiembre y octubre de 2008 sólo se hicieron en los sitios 1, 2 y 3. En cada uno de ellos se realizaron tres arrastres superficiales mediante una red de fitoplancton de 20 µm y se midió la temperatura del agua con un termómetro de cubeta (Kahlsico).

De las tres muestras obtenidas en los arrastres, dos se fijaron con lugol y formol, respectivamente y en la tercera alícuota no se utilizó fijador. Posteriormente

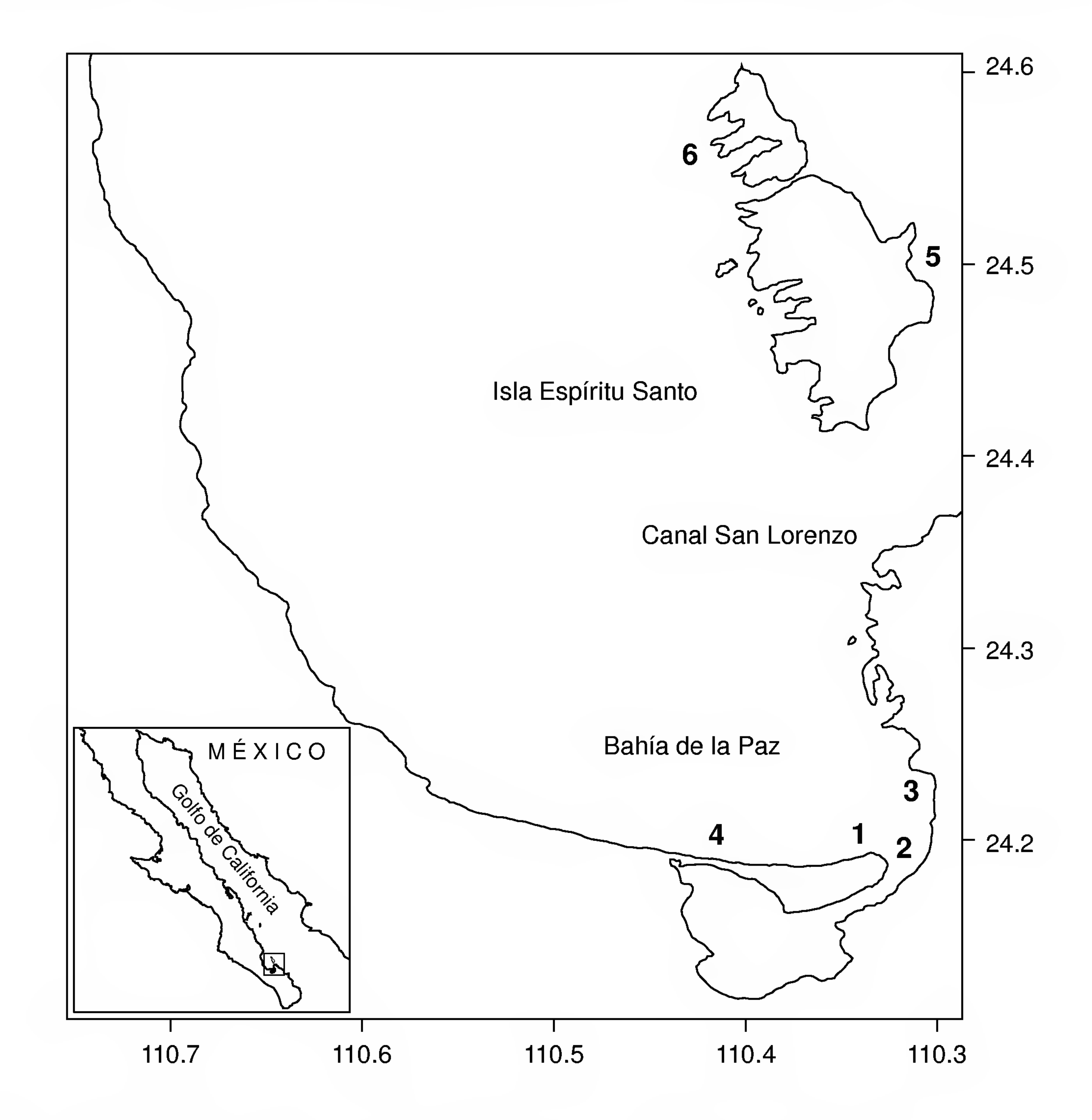


Fig. 1. Área de estudio y localización de las estaciones de muestreo (1-6).

se revisaron minuciosamente mediante un microscopio invertido Zeiss, utilizando cámaras de sedimentación (Utermöhl, 1958), con el fin de encontrar la presencia de copépodos infestados con diatomeas y contar el número de estas últimas.

Las diatomeas se identificaron utilizando los trabajos de Gibson (1979), Hiromi et al. (1985) y Skovgaard y Saiz (2006). Las características morfológicas propias de *Pseudohimantidium pacificum* han sido descritas y resumidas en los trabajos de Gibson (1979) y Rivera et al. (1986). Para la identificación del copépodo se usó el catálogo de de Palomares-García et al. (1998).

Las imágenes que aparecen en la figura 2 se tomaron en un microscopio invertido Zeiss utilizando una cámara fotográfica digital Panasonic, y las de la figura 4 se obtuvieron con un microscopio Olympus CK2 (Japón), mediante una cámara digital integrada CCD-Pro-series y el procesador de imágenes Image-Pro-express.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Epibiosis de *Pseudohimantidium pacificum* con *Farrandula gibbula*

Se encontró un total de 62 copépodos machos de la especie *Farranula gibbula* Giesbrecht, sin hallar hembras en las muestras. Esta especie es común en la Bahía de La Paz, particularmente durante la temporada de invierno (Palomares-García, 1996), cuando llega a alcanzar una talla de hasta 1 mm de longitud. *F. gibbula* ha sido registrado de diversas lagunas costeras de la costa occidental del Golfo de California y para el litoral oeste de la península de Baja California (Palomares-García et al., 1998).

De los 62 ejemplares de *Farranula gibbula* encontrados, 27 (43.5%) presentaban sobre su caparazón a la diatomea *Pseudohimantidium pacificum*, perteneciente a la familia Protoraphidaceae, cuyos representantes son organismos señalados como típicamente epizoicos sobre distintas especies de copépodos (Gibson, 1979). *Pseudohimantidium pacificum* se puede confundir con otras especies y variedades descritas, pero se diferencia de ellas por presentar el eje apical curvado y un canal provisto de poros conspicuos en ambos extremos de la valva (González y Vergara, 1984); en este estudio se midieron 30 ejemplares de 28-70 µm de largo y de 10-17 µm de ancho, datos que se ajustan al intervalo de tallas descrito por Rivera et al. (1986).

Los valores promedio de abundancia de *P. pacificum* por muestra y por estación se resumen en el Cuadro 1; el menor número de epibiontes por copépodo se encontró en la estación 2 y el mayor en la 4; aunque el valor promedio más alto

Cuadro 1. Número de individuos de copépodos con el epibionte *Pseudohimantidium pacificum*, porcentaje de infestación y por estación de muestreo.

	Est. 1	Est. 2	Est. 3	Est. 4	Est. 5	Est. 6
Total de individuos de *F. gibbula* por muestra	8	2	12	20	8	12
Cantidad y proporción de individuos de *F. gibbula* infestados por muestra	--	1(50%)	4(33.3%)	10(50%)	4(50%)	8(66.6%)
Promedio del número de *P. pacificum* por copépodo	--	16	82	62.5	55	28
Cantidad total de *P. pacificum* por estación	--	16	328	625	220	224

se registró en la 3 (82). Los individuos de *P. pacificum* se establecieron con mayor preferencia en el abdomen del copépodo (Figs. 2B, C y D), aunque también se observaron en el tórax y, en menor proporción, en la cabeza (Fig. 2E). La adhesión la realizan a través de un pedúnculo de mucopolisacáridos.

La infestación de diatomeas con copépodos reduce la movilidad de estos últimos, lo que ocasiona una disminución en su resistencia ante posibles depredadores e interfiere con su apareamiento (Hiromi et al., 1985). Por otro lado, Russell y Norris (1971) señalan que el hábitat de los copépodos puede ser responsable de que las diatomeas adheridas a los mismos pasen de un nivel trófico a otro y mencionan que la presencia de las últimas sobre el caparazón de los primeros puede incrementar su valor nutritivo. Por su parte, McClatchie et al. (1990) encontraron que algunos copépodos pueden llegar a tener grandes densidades de diatomeas adheridas, suficientes para registrar fluorescencia 25 veces mayor que la de los individuos no infestados; estos autores señalan que la presencia de diatomeas epizoicas interfiere en estudios sobre pastoreo, pues es posible que tengan implicaciones en la medición de tasas de alimentación a corto plazo, ya que éstas pueden ser sobreestimadas. Hargraves y Maranda (2002) registran colonias de *P. pacificum* cubriendo completamente los cuerpos de langostas juveniles en tanques de cultivo, provocando una alta mortandad de las mismas, por lo que se consideran como microalgas nocivas.

En las muestras colectadas de enero a noviembre de 2006 no se observó la presencia de copépodos infestados por la diatomea *P. pacificum*. El patrón de la temperatura del agua durante el año de 2006 mostró una oscilación de 12° C, con el valor mínimo de 19° C en enero y el máximo de 31° C en agosto. La temperatura

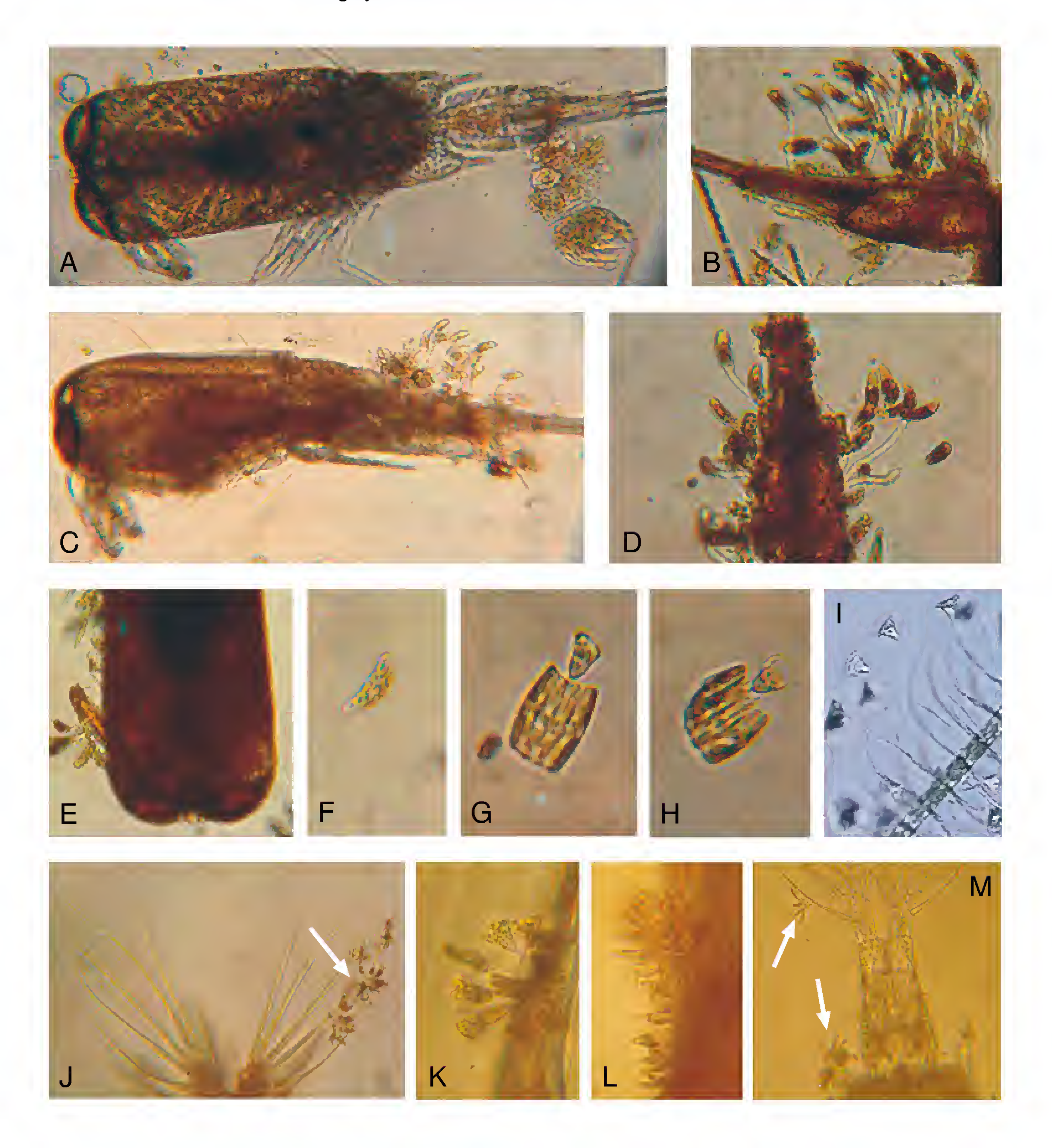


Fig. 2. (A) Ejemplar macho de *Farranula gibbula* que no presenta infestación de diatomeas. (B, C, D, E) *Farranula gibbula* mostrando la presencia de *Pseudohimantidium pacificum* en diversas partes del cuerpo. (F) célula aislada de *Pseudohimantidium pacificum*. (G, H) paquete de células de *Fragilariopsis doliolus* que presentan adherido un ciliado de tipo *Vorticella*. (I) relación simbiótica entre *Chaetoceros coarctatus* y *Vorticella oceanica*. (J) Diatomea penal (indicado con la flecha) sobre el copépodo *Acartia claussii*. (K) *Licmophora* sp. sobre un copépodo. (L, M) Diatomea penal (indicado con la flecha) sobre el copépodo *Acartia lilljeborgii*.

registrada durante los días de muestreo, cuando se observó la presencia de la epibiosis diatomea/copépodo, fue de 24-25º C, la cual es muy similar a la encontrada por Skovgaard y Saiz (2006) en Puerto Olímpico, España. En los muestreos realizados en los meses de enero de 2007 y febrero, septiembre y octubre de 2008 esta fue de 19, 20, 30 y 29° C, respectivamente.

Pseudohimantidium pacificum se ha encontrado tanto en aguas templadas como tropicales de los océanos Pacífico, Índico y Atlántico, así como en el Mar Mediterráneo (Simonsen, 1974; Navarro, 1982; Skovgaard y Saiz, 2006). Hiromi et al. (1985) señalan que la distribución de la especie es mundial y puede ser considerada como de afinidad templado-tropical. La figura 3 muestra la distribución actual conocida de *P. pacificum*, la cual, a juzgar por el número de registros y su ubicación geográfica, tiene una mayor concentración en las aguas cálidas de ambas costas del Océano Pacífico. El registro de *P. pacificum* en este trabajo es el primero, tanto para la Bahía de La Paz, en el Golfo de California, como para el Pacífico Mexicano.

La epibiosis entre diatomeas y copépodos parece ser un hecho común en la Bahía de La Paz, ya que en muestras colectadas en junio de 2008 se observó un caso de epizoismo de la diatomea *Licmophora* sp. sobre un copépodo (Est. 4; Fig. 2K) (Gárate-Lizárraga et al., 2008).



Fig 3. Distribución mundial de la diatomea epizoica *Pseudohimantidium pacificum* (•): Fuentes de información: Krasske, 1941; Russell y Norris, 1971; Belyaeva, 1973; Simonsen, 1970, 1974; Gibson, 1978, 1979; Navarro, 1982; Hiromi et al., 1985; Rivera et al., 1986; Lafforgue et al., 2001; Hanaoka et al., 2002; Hargraves y Maranda, 2002; Lee et al., 1993; Skovgaard y Saiz, 2006; Schiebel et al., 2004; este estudio.

Otras asociaciones

En las muestras de febrero de 2008 se observó la presencia de una diatomea penal distribuida en forma individual o formando ramilletes de entre 10 y ≈60 células en diversas partes del cuerpo de tres ejemplares de copépodos de la especie *Acartia clausii* Giesbrecht (Est. 1 y 3; Fig. 2J), mientras que en septiembre de este mismo año se le registró en seis individuos de *Acartia lilljeborgii* Giesbrecht (Est. 2 y 3; Fig. 2L, M), ambas especies comunes en la Bahía de la Paz. Estos hallazgos, también representan el primer registro de diatomeas epizoicas sobre especies del género *Acartia* en aguas mexicanas.

En las muestras analizadas se encontraron asimismo las siguientes asociaciones: la diatomea *Chaetoceros coarctatum* Lauder con el ciliado *Vorticella oceanica* Zacharias (Fig. 2I); *Leptocylindrus mediterraneus* (H. Peragallo) Hasle y el flagelado *Solenicola setigera* Pavillard; y la asociación entre *Fragilariopsis doliolus* (Wallich) Medlin & Sims y un protozoario del tipo *Vorticella* (Figs. 2G, H), así como una relación similar entre el silicoflagelado *Dictyocha pentagona* (Schulz) Bukry & Foster y el mismo ciliado. De estas dos últimas asociaciones no se tenían registros en la literatura mundial, por lo que resultan hallazgos importantes.

Otros casos de epifitismo, endosimbiosis y parasitismo

En un estudio previo realizado por Garate-Lizárraga y Martínez López (2004) en la Bahía de La Paz se registraron 17 casos de asociación epifítica entre coanoflagelados y diatomeas, siendo los más frecuentes los relacionados con la diatomea del género *Chaetoceros*, al que le siguen *Rhizosolenia*, *Guinardia*, *Bacteriastrum*, *Coscinodiscus*, *Pseudosolenia* y *Corethron*. En nuestra investigación hemos encontrado varios casos de epifitismo de diatomeas penales sobre dos especies de *Chaetoceros*, y de una de cocolitofórido sobre entidades de los géneros *Chaetoceros* y *Bacteriastrum*.

En las diatomeas *Hemiaulus sinensis* Greville, *H. hauckii* Grunow in Van Heurck, *H. membranaceus* Cleve, *Rhizosolenia imbricata* Brightwell, *R. cleveii* var. *communis* Sundström, *Guinardia cylindrus* (Cleve) Hasle, *Pseudosolenia calcar-avis* (Schultze) Sundström y *Chaetoceros compressus* Lauder se presentó endosimbiosis con la cianobacteria *Richelia intracellularis* Schmidt.

Asimismo, se han registrado casos de parasitismo del dinoflagelado *Paulsenella chaetoceratis* (Paulsen) Chatton sobre especies del género *Chaetoceros* y del dinoflagelado *Amoebophrya ceratii* (Koeppen) Cachon infestando a *Gonyaulax polygramma* Stein (Gárate-Lizárraga y Martínez-López, 2004; Gárate-Lizárraga et al., 2006).

Por su parte, cianobacterias cocoides fueron observadas en epibiosis con *Ornithocercus magnificus* Stein. De la última especie y de *O. heteroporus* Kofoid y *O. steinii* Schütt se tienen registros de este tipo de asociación en el Sistema Lagunar Magdalena-Almejas (Gárate-Lizárraga et al., 2007).

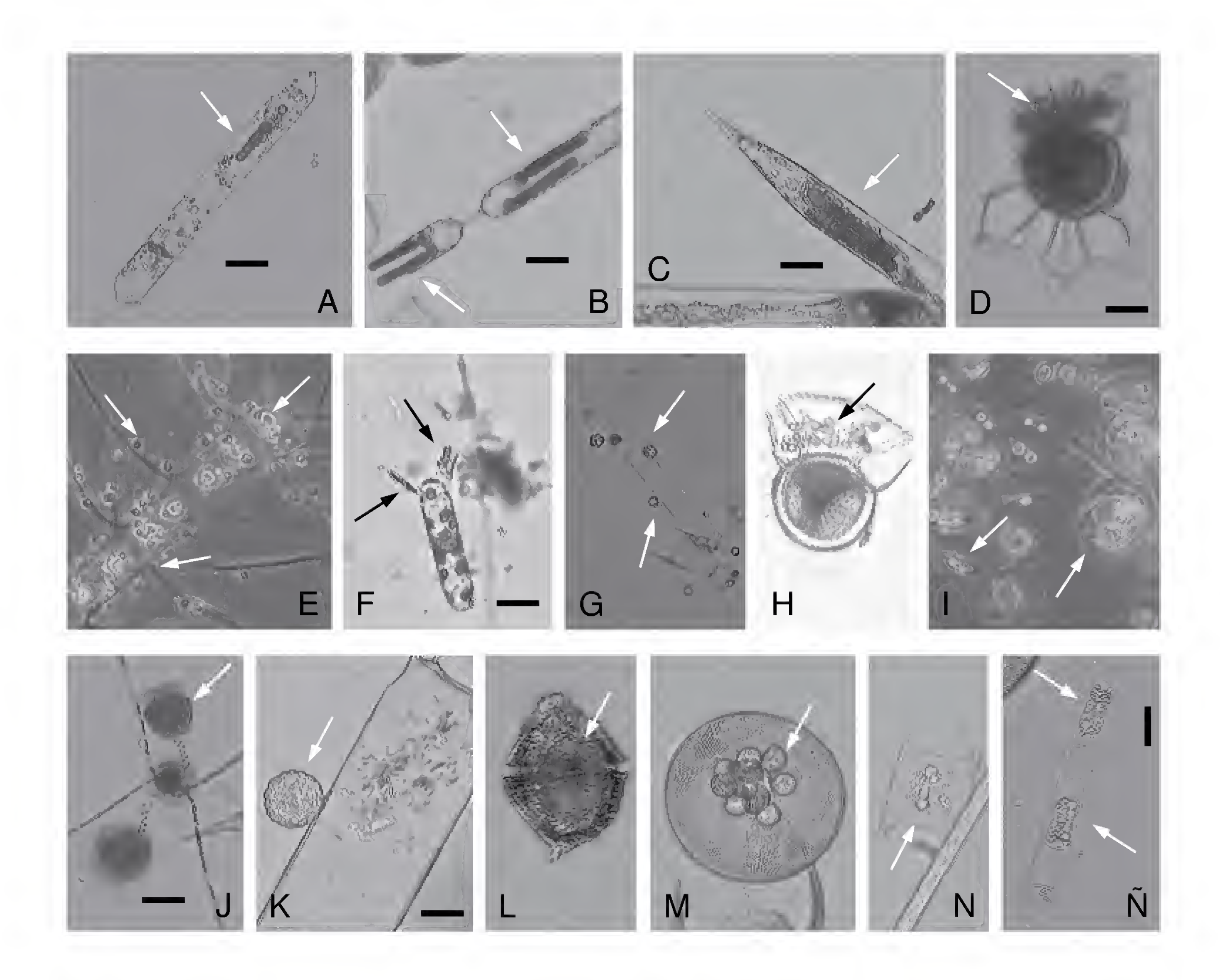


Fig 4. Diferentes tipos de simbiosis observadas entre microalgas y protozoarios en la Bahía de La Paz. Asociación de *Guinardía cylindrus* (A y B), *Rhizosolenia clevei* var. *communis* Sundström (C), *Hemiaulus sinensis* (N), *Hemiaulus hauckii* (Ñ) con *Richelia intracellularis* (indicada con la flecha). *Ornithocercus magnificus* mostrando la presencia de cianobacterias (D y H). Coanoflagelados cubriendo la superficie valvar de *Chaetoceros didymus* (E). *Corethron hystrix* Hensen con diatomeas epifitas (F). *Chaetoceros* sp. con cocolitofóridos epifitos (G). Epibiosis entre *Chaetoceros* sp. y *Thalassiosira* sp. con diatomeas epifitas del género *Pseudo-nitzschia* (I). *Chaetoceros coarctatum* (J), *Biddulphia* sp. (K) y *Coscinodiscus asteromphalus* Ehrenberg (M) con *Vorticella oceanica*. *Gonyaulax polygramma* parasitado por *Amoebophrya ceratii* (L, indicado con la flecha). Barra de escala = 20 μm.

Recientemente, durante los florecimientos de las poblaciones de *Chaetoceros socialis* Lauder ocurridos en febrero de 2007 (≈ 3, 600 000 cél L^{-1}) y enero y febrero del 2008 (≈ 800,000 - 4, 200 000 cél L^{-1}) se observó la presencia de diatomeas penales epifitas pertenecientes al género *Pseudo-nitzschia* sobre las valvas de *C. socialis*. Este ejemplo de epifitismo también lo han registrado Alonso-Rodríguez et al. (2008) para diversas lagunas costeras de Sinaloa, y la asociación ha sido documentada para las costas de las Islas San Juan, Washington por Rines et al. (2002).

En la figura 4 se ilustran algunos de los casos más representativos de epibiosis, endosimbiosis y parasitismo entre diversas especies de microalgas y ciliados que se encuentran en la Bahía de la Paz.

CONCLUSIONES

Los resultados de este estudio permiten concluir que las asociaciones simbióticas entre las diferentes especies de microalgas con cianobacterias, ciliados y copépodos son frecuentes en aguas del Golfo de California, particularmente en la Bahía de La Paz. Tales asociaciones no sólo están conformadas por diatomeas y dinoflagelados que se adhieren a otros organismos del fitoplancton o del zooplancton, sino también de ciliados y cianobacterias. La endosimbiosis y el parasitismo son tipos de simbiosis que no están muy estudiados en nuestras áreas de estudio, por lo cual representan una línea de investigación con un gran potencial. En futuras investigaciones es necesario considerar los diferentes tipos de asociaciones simbióticas que se establecen entre las microalgas planctónicas y otros grupos del zooplancton a fin de tener un mayor conocimiento y sobre el tipo y la dinámica de las mismas en el plancton marino del Pacífico Mexicano.

AGRADECIMIENTOS

Se agradece al Instituto Politécnico Nacional por el apoyo financiero para la realización de este trabajo a través de los proyectos SIP-20071252, SIP-20070883 y SIP-20082279; a Ricardo Palomares-García y Gabriela M. Esqueda-Escárcega (Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas, del Instituto Politécnico Nacional) por su ayuda en la identificación de las especies de copépodos, a María Clara Ramírez-Jáuregui (Instituto de Ciencias del Mar y Limnología, Unidad Mazatlán, de la Universidad Nacional Autónoma de México) por facilitar la literatura especializada

y a A. Martínez (también del Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas, del Instituto Politécnico Nacional) por su ayuda en la toma de las fotografías que aparecen en la Figura 4. Asimismo, agradecemos la meticulosa revisión editorial y de dos árbitros anónimos a nuestro manuscrito. El primer autor es becario de la Comisión de Cooperación y Fomento de Actividades Académicas y de los Estímulos al Desempeño de los Investigadores.

LITERATURA CITADA

Alonso-Rodríguez, R., I. Gárate-Lizárraga y S. Gómez-Aguirre. 2003. Epifitismo del ciliado *Vorticella* sp. (Ciliophora: Peritricha) sobre tres especies de diatomeas, en la Bahía de Mazatlán, México. X Congreso Latinoamericano de Ciencias del Mar. San José, Costa Rica. Disco compacto.

Alonso-Rodríguez, R., D. Hernández-Becerril e I. Gárate-Lizárraga. 2008. Catálogo de microalgas de las lagunas costeras de Sinaloa. In: Páez-Osuna, F. (ed.). Lagunas Costeras de Sinaloa. Universidad Nacional Autónoma de México, Instituto de Ciencias del Mar y Limnología (Estación Mazatlán), Colegio de Sinaloa, Comité Estatal de Sanidad Acuícola de Sinaloa, Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales, y Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología. Culiacán. 198 pp.

Belyaeva, T. V. 1973. Distribution of the diatoms of the genus *Pseudohimantidium* Hustedt et Krasske. Bot. Zh. (Leningrad) 58(6): 883-885.

Carman, K. R. y F. C. Dobbs. 1997. Epibiotic microorganisms on copepods and other marine crustaceans. Microsc. Res. Technol. 37: 116-135.

Cruz-Orozco, R., A. Mendoza-Maravillas y C. Martínez-Noriega. 1989. Profundidades y formas de la Bahía de La Paz. Geonotas 1: 2.

Coats, D. W., T. Bachvaroff, S. M. Handy, S. Kim, I. Gárate-Lizárraga y C. F. Delwiche. 2008. Prevalence and phylogeny of parasitic dinoflagellates (genus *Blastodinium*) infecting copepods in the Gulf of California. Oceánides 23(1-2): 67-77.

Cupp, E. E. 1943. Marine plankton diatoms of the west coast of North America. Bull. Scripps Inst. Oceanogr. 5: 1-238.

De Silva-Dávila, R. y R. Palomares-García. 2002. Distributional patterns of the euphausiid community in Bahía de La Paz, B.C.S., México. In: Hendrickx, M. E. (ed.). Contributions to the study of the East Pacific crustaceans. Instituto de Ciencias del Mar y Limnología, Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F. pp. 109-125.

Gárate-Lizárraga, I. y D. A. Siqueiros-Beltrones. 1998. Time variations in phytoplankton assemblages in a subtropical lagoon system after the 1982/83 El Niño event (1984/86). Pac. Sci. 52: 79-97.

Gárate-Lizárraga, I. y D. A. Siqueiros-Beltrones. 2003. Infection of *Ceratium furca* by the parasitic dinoflagellate *Amoebophrya ceratii* (Amoebophridae) in the Mexican Pacific. Acta Bot. Mex. 65: 1-9.

Gárate-Lizárraga, I., D. A. Siqueiros-Beltrones y C. A. Lechuga-Devéze. 1990. Estructura de las asociaciones microfitoplanctónicas de la región central del Golfo de California en el otoño de 1986. Cienc. Mar. 16(3): 131-153.

Gárate-Lizárraga, I. y A. Martínez-López. 2004. Simbiosis en diatomeas y dinoflagelados de la porción sur del Golfo de California. XIII Reunión Nacional de la Sociedad Mexicana de Planctología y VI Reunión Internacional de Planctología. Nuevo Vallarta, Nayarit, México. pp. 95-96.

Gárate-Lizárraga, I., M. S. Muñetón-Gómez y V. Maldonado-López. 2006. Florecimiento del dinoflagelado *Gonyaulax polygramma* frente a la Isla Espíritu Santo, Golfo de California (Octubre-2004). Rev. Invest. Mar. 27(1): 31-39.

Gárate-Lizárraga, I., C. J. Band-Schmidt, G. Verdugo-Díaz, M. S. Muñetón-Gómez y E. F. Félix-Pico. 2007. Dinoflagelados (Dinophyceae) del sistema lagunar Magdalena-Almejas. In: Funes-Rodríguez, R., J. Gómez-Gutiérrez y R. Palomares-García (eds.). Estudios ecológicos en Bahía Magdalena. Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas - Instituto Politécnico Nacional. La Paz. pp. 145-174.

Gárate-Lizárraga, I., C. J. Band-Schmidt y T. Grayeb del Alamo. 2008. *Myrionecta, Gyrodinium* and *Katodinium* bloom in Gulf of California. Harmful Algae News, An IOC Newsletter on toxic algae and algal blooms. Paris. 37: 6-7.

Gibson, R. A. 1978. *Pseudohimantidium pacificum,* an epizoic diatom new to Florida Current (western North Atlantic Ocean.). J. Phycol. 14: 371-373.

Gibson, R. A. 1979. An ultrastructure study of *Pseudohimantidium pacificum* Hust. & Krasske (Bacillariophyceae: Photoraphidaceae) with special reference to the labiate processes. Nova Hedwigia Beih. 64: 147-156.

González, H. y L. Vergara. 1984. Interacción ecológica entre la diatomea epizoica *Pseudohimantidium pacificum* Hust. & Krasske 1941 y copépodos del género *Corycaeus.* Rev. Biol. Mar. 20(1): 77-90.

Green, J. 1974. Parasites and epibionts of *Cladocera*. Trans. Zool. Sot. Lond. 32: 417-515.

Hanaoka, H., S. Ohtani y S. Ohtsuka. 2002. A study of life history of pennate diatom *Pseudohimantidium pacificum* attached to planktonic copepod *Corycaeus affinis.* Diario de la Reunión Anual. Japan Soc. for Science Education 2(6): 263-264.

Hargraves, P. E. y L. Maranda. 2002. Potentially toxic or harmful microalgae from the northeast coast. Northeast. Nat. 9(1): 81-120.

Hiromi, J., S. Kadota y H. Takano. 1985. Diatom infestation of marine copepods (Review). Bull. Tokai Reg. Fish. Res. Lab. 117: 37-45.

Ho, J. y P. S. Perkins. 1985. Symbionts of marine copepoda: an overview. Bull. Mar. Sci. 37: 586-598.

Krasske, G. 1941. Die Kieselalgen des chilenischen Küstenplanktons. Arch. Hydrobiol. 38: 260-287.

Lafforgue, M., C. Pateron, V. Salvert y M. Ricard. 2001. Proyecto manejo ambiental de las Islas de La Bahía. Informe técnico No. Cac 03 - Volumen 2/2. Diagnóstico de la calidad de las aguas de la Isla de Guanaja, Honduras. Isla de Guanaja, Honduras. 98 pp.

Lee, J. H., J. Y. Lee y M. O. Kim. 1993. The fine structure of the marine epizoic pennate diatom *Pseudohimantidium pacificum* in Korean coastal waters. Jour. Oceanol. Soc. Kor. 28(3): 202-211.

Lincoln, R. J., G. A. Boxball y P. F. Clark. 1995. Diccionario de ecología, evolución y taxonomía. Fondo de Cultura Económica. México, D.F. 488 pp.

McClatchie, S., R. Kawachi y D. E. Dalley. 1990. Epizoic diatoms on the euphausiid *Nyctiphanes australis*: consequences for gut pigment analyses of whole krill. Mar. Biol. 104: 227-232.

Navarro, J. N. 1982. A survey of the marine diatoms of Puerto Rico. IV. Suborder Araphidineae: families Diatomaceae and Protoraphidaceae. Bot. Mar. 25: 247-263.

Ohtsuka, S., M., Hora, T. Suzaki, M. Arikawa, G. Omura y K. Yamada. 2004. Morphology and host-specificity of the apostome ciliate *Vampyrophrya pelagica* infecting pelagic copepods in the Seto Inland Sea, Japan. Mar. Ecol. Prog. Ser. 282: 129-142.

Palomares-García, R. 1996. Estructura espacial y variación estacional de los copépodos en la Ensenada de La Paz. Oceánides 11(1): 29-43.

Palomares-García, R., E. Suárez y S. Hernández-Trujillo. 1998. Catálogo de los copépodos (Crustacea) pelágicos del Pacífico mexicano. Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas - El Colegio de la Frontera Sur. México, D.F. 52 pp.

Rines, J. E. B., P. L. Donaghay, M. M. Dekshenieks, J. M. Sullivan y M. S. Twardowski. 2002. Thin layers and camouflage: hidden *Pseudo-nitzschia* populations in a fjord in the San Juan Islands, Washington, USA. Mar. Ecol. Prog. Ser. 225: 123-137.

Rivera, P. S., H. E. González y H. L. Barrales. 1986. Cingulum and valve morphology of *Pseudohimantidium* Hustedt & Krasske (Bacillariophyceae*)*. Phycologia 25: 19-27.

Russell, D. J. y R. E. Norris. 1971. Ecology and taxonomy of an epizooic diatom. Pac. Sci. 25: 357-367.

Schiebel, R., A. Zeltner, U. F. Treppke, J. J. Waniek, J. Bollmann, T. Rixen y C. Hemleben. 2004. Distribution of diatoms, coccolithophores and planktic foraminifers along a trophic gradient during SW monsoon in the Arabian Sea. Mar. Micropaleon. 51(3-4): 345-371.

Simonsen, R. 1970. Protoraphidaceae, eine neue Familie der Diatomeen. Nova Hedwigia Beih. 31: 377-394.

Simonsen, R. 1974. The diatom plankton of the Indian Ocean Expedition of the R.V. "Meteor. 1964-65". Meteor. Forschungsergeb. (D. Biol.). 19: 1- 66.

Siqueiros-Beltrones, D. A., S. Ibarra-Obando y D. Loya-Salinas. 1985. Una aproximación a la estructura florística de las diatomeas epifitas de *Zostera marina* y sus variaciones temporales en Bahía Falsa, San Quintín, B.C. Cien. Mar. 11(3): 69-88.

Siqueiros-Beltrones, D. A., E. Serviere-Zaragoza y U. Argumedo-Hernández. 2002. Epiphytic diatoms of *Macrocystis pyrifera* (L.) C. Agardh from the Baja California Peninsula, Mexico. Oceánides 17(1): 31-39.

Siqueiros-Beltrones, D. U. y U. Argumedo-Hernández. 2005. Florística de diatomeas epifitas en laminales apicales de *Macrocystis pyrifera* (L.) C. Agardh. Oceánides 20(1,2): 37-63.

Skovgaard, A. y E. Saiz. 2006. Seasonal occurrence and role of protistan parasites in coastal marine zooplankton. Mar. Ecol. Prog. Ser. 327: 37-492.

Takano, H. 1983. New and rare diatoms from Japanese marine waters. XI. Three new species epizoic on copepods. Bull. Tokai Reg. Fish. Res. Lab. 111: 23-33.

Utermöhl, H. 1958. Zur Vervollkommnung der quantitativen Phytoplankton-Methodik. Mitt. Int. Verein Theor. Angew. Limnol. 5: 567-596.

Villaseñor-Casales, A. 1979. Distribución vertical de temperatura, salinidad y oxígeno disuelto en la Bahía de La Paz, Baja California Sur, durante la primavera de 1976. Calif. Coop. Ocean. Fish. Invest. Rep. 20: 146-149.

Recibido en febrero de 2007.

Aceptado en abril de 2009.



Acta Botanica Mexicana 88: 47-57 (2009)

PROSTHECHEA MADRENSIS, A RECONSIDERATION OF *EPIDENDRUM MADRENSE* SCHLTR. (ORCHIDACEAE: LAELIINAE)

Adam P. Karremans

Jardín Botánico Lankester, Universidad de Costa Rica.
Centro de Investigación en Orquídeas de los Andes "Ángel Andreetta",
Universidad Alfredo Pérez Guerrero, Extensión Gualaceo, Ecuador.
adam.karremans@wur.nl

ABSTRACT

Epidendrum madrense, traditionally treated under the synonymy of *Prosthechea chacaoensis*, is recognized as a distinct species and transferred to *Prosthechea*. The number, length, and shape of the nectar guides on the labellum are useful taxonomic characters to distinguish closely related species in *Prosthechea*.

Key words: Laeliinae, Mesoamerica, Orchidaceae, *Prosthechea madrensis*.

RESUMEN

Epidendrum madrense, tratada tradicionalmente como un sinónimo de *Prosthechea chacaoensis*, es reconocida como una especie distinta y se transfiere al género *Prosthechea*. El tamaño, la forma y el número de las guías nectaríferas del labelo son caracteres útiles para distinguir entre especies cercanas en el género *Prosthechea*.

Palabras clave: Laeliinae, Mesoamérica, Orchidaceae, *Prosthechea madrensis*.

RECONSIDERING A LONG UNUSED NAME. While trying to clarify the identities of *Prosthechea ionophlebia* (Rchb.f.) W.E. Higgins and *P. chacaoensis* (Rchb.f.) W.E. Higgins (Pupulin & Karremans, 2007) some uncertainty arose about the determination of a plant from Nicaragua, which from a photographic record seemed to show some intermediate characteristics of both species. Later the opportunity of

studying living material of a Nicaraguan *Prosthechea* related to *P. chacaoensis* presented itself. The Nicaraguan specimen did not fully fit any of the names previously used for Mesoamerican *Prosthechea* populations, with the possible exception of the Mexican *Epidendrum madrense* Schltr.

Epidendrum madrense was originally collected by Eugène Langlassé in the Sierra Madre, Mexico, in 1877. The holotype was ostensibly destroyed by fire in 1943, together with Schlechter's analytical drawings (Ames, 1944). However, a tracing of the drawing of the type is conserved at the Oakes Ames Orchid Herbarium, Harvard University Herbaria (http://ids.lib.harvard.edu/ids/view/5783597) reporduced here as Fig. 1. In the drawing of the type, the flower shows very narrow sepals and petals and a short lip with few and short nectar guides, quite dissimilar from the Nicaraguan specimen studied. However, it was evident that plants with the same characteristics are quite common and widespread in northern Mesoamerica, as illustrations of this taxon appeared in different treatments of the orchid floras of Nicaragua, El Salvador, and Mexico (Hamer, 1974, 1982; Hágsater et. al., 2005). Miguel Ángel Soto Arenas kindly provided a drawing of a Mexican plant from Oaxaca, suggesting its name was *E. madrense*. The study of the type material kept at the herbarium of the National Museum of Natural History of Paris (P), allowed me to conclude that the plant ranging from Mexico to Nicaragua, and traditionally buried under synonymy of *P. chacaoensis*, is in fact a distinct species, corresponding to the *Epidendrum madrense* described by Schlechter, still in need of a combination in *Prosthechea*.

Prosthechea madrensis (Schltr.) Karremans, comb. nov.

Basionym: *Epidendrum madrense* Schltr., Beih. Bot. Centralbl. 36(2): 405 (1918). TYPE: Mexico: Sierra Madre, 1000 m. Apr. 1899, *Langlassé 1000 bis* (holotype, B, destroyed; isotypes, P 00407406!, P 00407407!; drawing of the holotype, AMES!). Figs. 2 and 3.

Plant epiphytic, pseudobulbous, erect, with a short rhizome. Roots flexuous. Pseudobulbs ovoid-elliptic, to 5 cm long, about 2.5 cm wide, diphyllous. Leaf leathery, sessile, elliptic to elliptic-oblong, to 15 cm long, 2 cm wide, acute. Inflorescence a raceme shorter than leaves, 1-4 flowered. Ovary pedicellate, triquetrous. Flowers not spreading completely; sepals and petals white, petals with a 1 mm long stripe at the base, the lip white, with 13 purple stripes, the three medium ones not reaching the lip apex, the middle one reaching half length between callus apex and lip apex, callus white. Dorsal sepal elliptic, spreading, acute, 17 x 6 mm. Lateral sepals obliquely ellip-



Fig. 1. Drawing of the holotype of *Epidendrum madrense* made under the supervision of R. Schlechter (AMES). Courtesy of the Orchid Herbarium of Oakes Ames, Harvard University Herbaria.



Fig. 2. Isotype of *Epidendrum madrense* (P 00407406), kept at the Muséum National d'Histoire Naturelle in Paris. Reproduced under the kind permission of the MNHN.



Fig. 3. Isotype of *Epidendrum madrense* (P 00407407), kept at the Muséum National d'Histoire Naturelle in Paris. Reproduced under the kind permission of the MNHN.

tic, acute, 17 x 6 mm. Petals obliquely elliptic, acute, 16 x 6-7 mm. Lip adnate to the basal third of the column, widely ovate, acute, with slightly undulate margins, slightly reflexed above the middle, 15-16 x 15-16 mm, callus 5 mm long and 2-3 mm wide, hairy. Column short, stout, about 7 mm long, three-toothed, with the mid-tooth half the length of the lateral teeth, with a triangular ligula under the mid-tooth and shorter than it. Anther cap, oblong, 4-celled. Pollinia 4, pyriform, complanate (Fig. 4) .

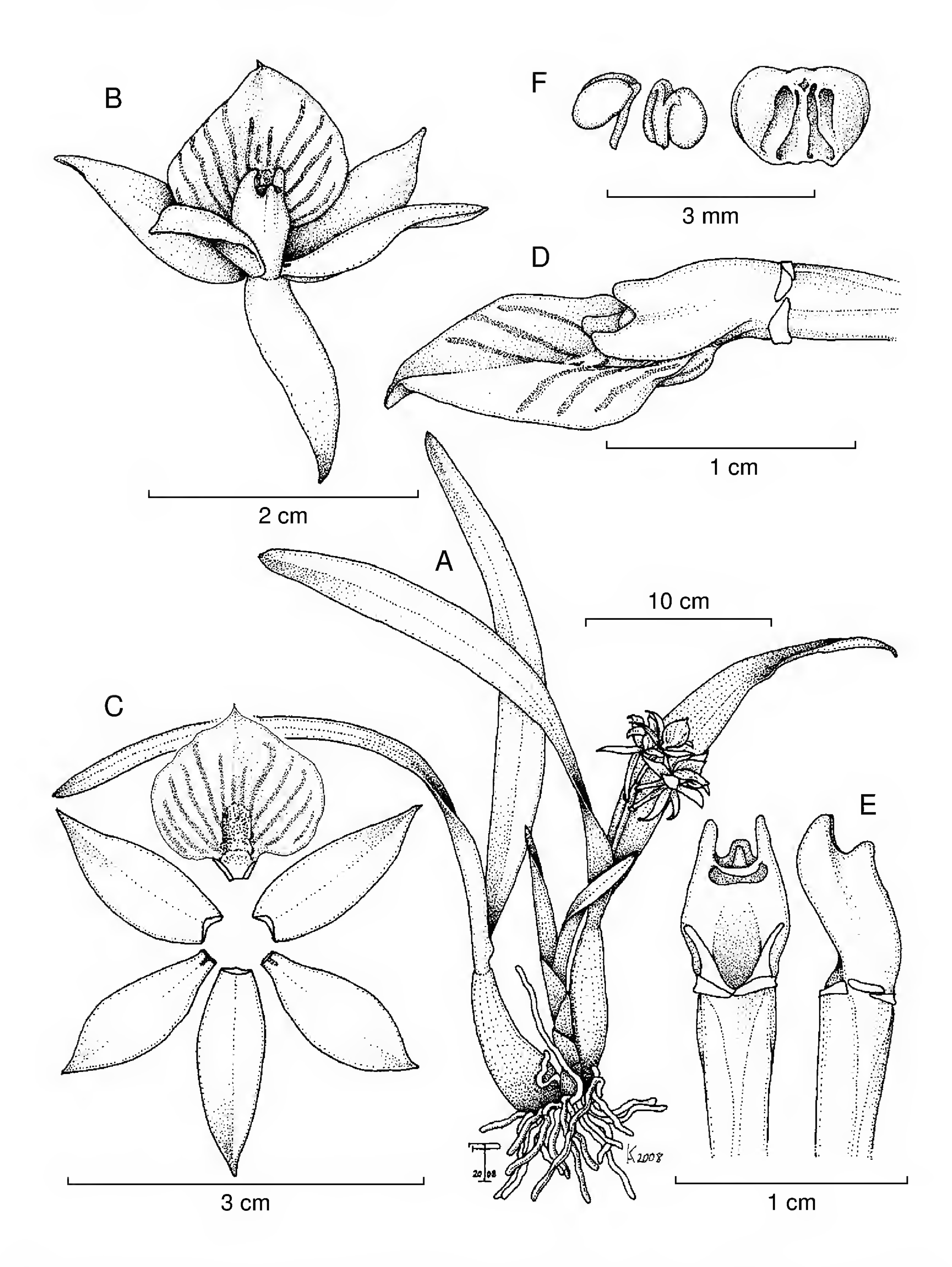


Fig. 4. *Prosthechea madrensis*. A. habit; B. flower; C. dissected perianth; D. column and lip, lateral view; E. column, ventral and lateral views; F. pollinarium (two views) and anther cap. Drawn by F. Pupulin & A. Karremans from *Karremans 1512* (JBL-Spirit).

Amongst the species of the *Prosthechea*, *P. madrensis* is most similar to *P. chacaoensis*, from which it differs by the ovoid-elliptic vs. pyriform pseudobulbs, the slightly vs. strongly concave lip (column visible in the former and covered by the margins of the lip in lateral view in the latter), the spreading, slightly bent vs. strongly reflexed petals, the midlines of lip truncate vs. continuous, the petals marked basally (vs. unmarked), and the apical margins of the lip reflexed and wavy vs. straight with plane margins. It can be distinguished from *P. ionophlebia* by the elliptic vs. pyriform-globose pseudobulbs, the non branched vs. many-branched lines of the lip, and the smaller flowers (dorsal sepal 17 x 6 mm, petals 16 x 6-7 mm, lip, 15-16 x 15-16 mm vs. dorsal sepal 22-26 x 8-11 mm, petals 20-23 x 10-13 mm, lip 20-23 x 22-28 mm).

Distribution. Available records confirm its presence in El Salvador, Nicaragua and Mexico.

Studied specimens. Mexico: Oaxaca: Distrito de Jamiltepec, 1050 m, *M. A. Soto* 7226, AMO, drawing! El Salvador: Cumbre del Bálsamo, atrás de Jayaque, 474-1100 m, *F. Hamer 39*, SEL, drawing! Nicaragua: Madriz: *Karremans 1512*, JBL-Spirit!; Nueva Segovia: *Karremans 1539,* JBL-Spirit! Without collecting data: *Karremans 1119,* JBL-Spirit! *Karremans 2362,* JBL-Spirit!

Ecology. Epiphytic in the dry forests and open areas of intermediate height, between 600 and 1000 meters of elevation. Flowering occurs at least from March to June.

Conservation status. Data deficient.

THE COCKLE-SHELL PROSTHECHEAS. The genus *Prosthechea* suffered great taxonomic changes in the last years, and several discrete genera have been split from it (Withner & Harding, 2004). However, in view of the quite poor generic delimitations of the newly proposed taxa, I prefer to adopt here a broad concept of *Prosthechea.* The genus includes the so called "cockle shell" orchids (alternatively included into *Anacheilium* Hoffmanns.), which are the main object of this paper. Morphologically, *P. madrensis* is closely related to a small group of species ranging from Mexico to Venezuela, which in Central America and Mexico include *P. chacaoensis* (with the widest distribution), *P. ionophlebia,* and *P. radiata* (Lindl.) W.E. Higgins (the oldest name in the group). Their taxonomy has been problematic and

all the species have been at some point considered synonyms of one or several of the other taxa (i.e., Ames et. al. 1936; Williams, 1946; Dunsterville & Garay, 1961; Foldats, 1970; Dressler & Pollard, 1976; Mora-Retana & Atwood, 1993; Espejo Serna & López Ferrari, 1997; Hamer, 2001; Withner & Harding, 2004).

Traditional taxonomy in this group of species has generally neglected the use of a variety of characters different from floral structure, which by themselves are insufficient to distinguish closely related species (Fig. 5). In particular, the overall patterns of the nectar guides of the lip have been mostly overlooked as distinguishing characters, even though they are generally preserved even in dried material. Nevertheless, the characteristics of these markings on the lip, which lead the pollinator to the center of the flower, are remarkably consistent within species, probably reflecting a specific role in pollination mechanisms improving efficiency in pollen reception and deposition (van der Pijl & Dodson, 1969; Dressler, 1993; Arditti, 2003; Knudsen et. al. 2006; Scopece et al. 2007; Pupulin & Karremans, 2008b).

Prosthechea chacaoensis can be recognized by its pyriform pseudobulbs, the ringent flowers, the elliptic petals sharply bent at the middle, and the suborbicular, acute, deeply concave lip with straight margins. The lip has 13-15 purple stripes on the lip, divided into five or six lateral stripes on each side and three medium stripes, all of them reaching up to 1-2 mm from lip apex (hereafter referred as "continuous); a few of the lateral stripes are regularly branched and all the line segments are born at the base of the lip (i.e., there are no disjointed stripes). The stripes are all equally thick, with the central ones straight and continuous. This species grows most likely from Mexico to Venezuela.

Prosthechea madrensis can be recognized by its ovoid-elliptic pseudobulbs, widely spreading flowers, the elliptic petals, and the suborbicular, apiculate, slightly concave (almost flattened) lip with wavy margins. The lip presents 13 (could also have 15) stripes, with the lateral ones continuous and the median ones truncate; the two outer stripes extend to about half to three fourths the length from the distal portion of the callus to the apex of lip; the central stripe has variable length, but is mostly shorter than the other two; none of the stripes are branched and they are also all equally thick. It is found at least in Mexico, El Salvador and Nicaragua, but probably also in the intermediate countries.

Prosthechea ionophlebia is distinguished by its pyriform pseudobulbs, the large flowers, with widely spreading segments, the broad petals, which have normally a broken margin near the middle, and the subreniform, concave, apiculate lip, with strongly wavy margins. The lip has 15-17 stripes, many of them strongly branched (even basally) and with several disjointed stripes (smaller and usually near the apex);

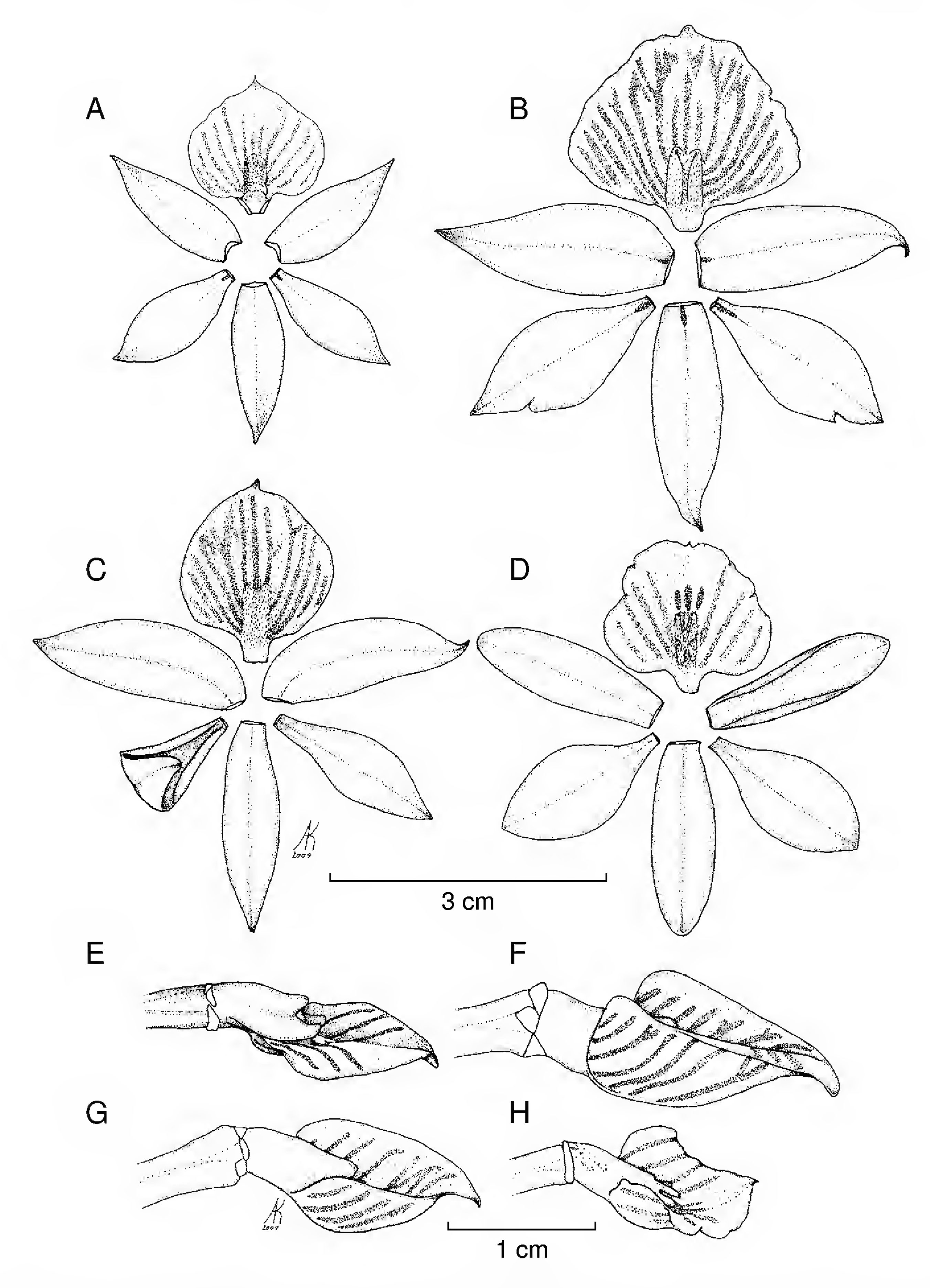


Fig. 5. A-D. Dissected perianths. A: *P. madrensis*, B: *P. ionophlebia*, C: *P. chacaoensis*, D: *P. radiata*. E-H. Column and lip, lateral view. E: *P. madrensis*, F: *P. ionophlebia*, G: *P. chacaoensis*, H: *P. radiata*. Vouchers: A and E: *Karremans 1512*; B and F: *Karremans 1275*; C and G: *Karremans 1078*; D and H: *Karremans 842*. All the vouchers at JBL-Spirit. Drawings by the author.

all the lateral stripes are continuous, but the three medium stripes are truncate, the two outermost ones reaching up half the length from the apex of callus to the apex of lip; the central line is longer but normally does not reach lip apex. All stripes have similar thickness. It is probably restricted to Costa Rica and Panama. So far all Mexican citations of the species, I have seen, actually correspond to one of the other three taxa.

Prosthechea radiata has ovoid-elliptic ridged pseudobulbs, spreading flower segments, and a slightly concave, suborbicular-ovate lip with wavy margins. It presents 11-15 stripes, the median ones much thicker; none of the stripes are branched and there are no disjointed stripes. The eight lateral stripes are continuous, but the medium ones are very short, reaching up just one third of the length between the apex of callus and lip apex. The mid-tooth of the column is much reduced. This species occurs from Mexico to Nicaragua. It is sometimes cited for Costa Rica, but I have not seen any evidence of its presence in the country.

Two other related species were published by Rudolf Schlechter: *Epidendrum hoffmannii*, which was collected by Hoffmann in Curidabad, Costa Rica, and *E. pachycarpum*, also from Costa Rica. Both species are almost indistinguishable from *Prosthechea chacaoensis*, except for the glabrous callus that Schlechter cited in the protologue of *E. pachycarpum*, a character that I have never observed in any of the related species (Pupulin & Karremans, 2007, 2008a).

ACKNOWLEDGMENTS

I am grateful to Franco Pupulin and Diego Bogarín for their extended collaboration, to Eric Hágsater and Miguel Soto Arenas for their worthy information and commentaries, to the staff of the Paris National Herbarium for their open collaboration, to Huan-Zee van Dijkgraaf for his kind support. I am especially thankful to Jan Karremans who photographed and brought the species to my attention.

LITERATURE CITED

Ames, O., F. T. Hubbard & C. Schweinfurth. 1936. The genus *Epidendrum* in the United States and Middle America. Botanical Museum. Cambridge, Massachusetts. 120 pp.

Ames, O. 1944. Destruction of the Schlechter Herbarium by bombing. Amer. Orch. Soc. Bull. 13(4): 37-42.

Arditti, J. 2003. Resupination. Lankesteriana 7: 95-96.

Dressler, R. L. & G. E. Pollard. 1976. The genus *Encyclia* in Mexico. Asociación Mexicana de Orquideología, A.C. México, D.F. pp. 40-41.

Dressler, R. L. 1993. Field guide to the orchids of Costa Rica and Panama. Cornell University Press. Ithaca. pp. 17-32.

Dunsterville, G. C. K. & L. A. Garay. 1961. Venezuelan orchids illustrated. Vol 2. André Deutsch Limited. Londres. 360 pp.

Espejo, A. & A. R. López-Ferrari. 1997. Las monocotiledóneas mexicanas, una sinópsis florística 1. Lista de referencia, parte VII. Orchidaceae. Consejo Nacional de la Flora de México y Universidad Autónoma Metropolitana. México, D.F. 36 pp.

Foldats, E. 1970. Orquídeas de Venezuela, 3. Instituto Botánico, Dirección de Recursos Renovables, Ministerio de Agricultura y Cría. Caracas. pp. 192-194.

Hágsater, E., M. A. Soto Arenas, G. A. Salazar Chávez, R. Jiménez, R. Jiménez Machorro, M. A. López Rosas & R. L. Dressler. 2005. Las Orquídeas de México. Instituto Chinoín. México, D.F. 304 pp.

Hamer, F. 1974. Las orquídeas de El Salvador, Tomo 1. Ministerio de Educación, Dirección de Publicaciones. San Salvador. pp. 186-187.

Hamer, F. 1982. Orchids of Nicaragua. Icon. Pl. Trop. fasc. 7-9. Marie Selby Botanical Gardens. Sarasota, Florida. Plates 601-900.

Hamer, F. 2001. Orchidaceae. In: Stevens, W. D., C. Ulloa Ulloa, A. Pool & O. M. Montiel (eds.). Flora de Nicaragua. Monogr. Syst. Bot. Missouri Bot. Gard. 85(2): 1809-1814.

Knudsen, J. T., R. Eriksson, J. Gershenzon & B. Ståhl. 2006. Diversity and distribution of floral scent. Bot. Rev. 72(1): 1-120.

Mora-Retana, D. E. & J. T. Atwood. 1993. Orchids of Costa Rica (Part 3). Icon. Pl. Trop., fasc. 16. Marie Selby Botanical Gardens. Sarasota, Florida. Plates 1501-1600.

Pupulin, F. & A. P. Karremans. 2007. *Prosthechea chacaoensis* and *P. ionophlebia*: two different species, but which is which? Lindleyana in Orchids 76(3): 202-208.

Pupulin, F. & A. Karremans. 2008a. The strange story of Hoffmann´s two *Epidendrums*. Lindleyana in Orchids 77(6): 454-457.

Pupulin, F. & A. Karremans. 2008b. The orchid pollinaria collection at Lankester Botanical Garden, University of Costa Rica. Selbyana 29(1): 69-86.

Scopece, G., A. Musacchio, A. Widmer & S. Cozzolino. 2007. Patterns of reproductive isolation in Mediterranean deceptive orchids. Evolution 61(11): 2623-2642.

Van der Pijil, L. & C. H. Dodson. 1969. Orchid flowers. Their pollination and evolution. University of Miami Press. Coral Gables, Florida. pp. 21-82.

Williams, L. O. 1946. Orchidaceae. Flora of Panama. Ann. Missouri Bot. Gard. 3(33): 315-404.

Withner, C. L. & P. Harding. 2004. The cattleyas and their relatives: the debatable *Epidendrums?*. Timber Press. Portland. pp. 27-136.

Recibido en marzo de 2009.

Aceptado en mayo de 2009.



Acta Botanica Mexicana 88: 59-72 (2009)

MORPHOGENESIS OF THE GAMETOPHYTES OF EIGHT MEXICAN SPECIES OF *BLECHNUM* (BLECHNACEAE)

Aniceto Mendoza-Ruiz and Blanca Pérez-García

Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa, Área de Botánica Estructural y Sistemática Vegetal, Departamento de Biología, Apdo. postal 55-535, 09340 México, D.F. México amr@xanum.uam.mx

ABSTRACT

A comparative study of the gametophytes of eight Mexican species of the genus *Blechnum* (Blechnaceae) is described. Fertile plants for spore collection were obtained at different Mexican localities. The spores were sown in agar enriched with Thompson media and cultured at 22-25 °C, with a light regime of 12 hours. Spores of all species are monolete, ellipsoidal to spheroidal, and non-chlorophyllous. *Vittaria*-type germination occurred after 6-14 days followed by a 2-6-cell-long filament and *Aspidium*-type prothallial development. Adult gametophytes are cordiform-spatulate to cordiform-reniform and have wide wings with numerous unicellular marginal and superficial hairs. Sporophytes developed only in *B. occidentale* and *B. polypodioides*.

Key words: Blechnaceae, *Blechnum*, fern, gametophytes, Mexico, morphogenesis.

RESUMEN

Se describe el estudio comparativo de la fase sexual de ocho especies del género *Blechnum* para México. Las plantas fértiles para la obtención de las esporas fueron recolectadas en distintas localidades del país. Éstas se sembraron en agar enriquecido con medio nutritivo de Thompson y se pusieron a germinar temperatura de 22-25 °C y con un régimen lumínico de 12 h luz. Las esporas de todas las especies son monoletes, elipsoidales a esferoidales, no clorofílicas; presentan germinación tipo-*Vittaria*, filamento de 2-6 células de longitud, desarrollo protálico tipo-*Aspidium*. Los gametofitos adultos son cordiforme-espatulados a cordiforme-reniformes, presentan amplias alas con numerosos pelos unicelulares marginales y superficiales; los gametangios son del tipo de los helechos leptosporangiados. Los esporofitos sólo se formaron en *B. occidentale* y *B. polypodioides*.

Palabras clave: Blechnaceae, *Blechnum*, gametofitos, helecho, México, morfogénesis.

INTRODUCTION

Blechnum L. is the largest genus of the family Blechnaceae (Pteridophyta). The nearly 200 species are primarily tropical. There are 15 species of *Blechnum* in Mexico. Mexican species are terrestrial, hemiepiphytic or epiphytic and most are widespread, extending into Central and South America. The genus has sometimes been divided on the basis of monomorphic (*Blechnum*) vs. dimorphic fronds (*Lomaria* Willd.), but there are several further groupings of dimorphic-fronded species, each of which could conceivably be considered a distinct genus (Smith, 1981; Mickel & Beitel, 1988; Moran, 1995; Mickel & Smith, 2004).

Gametophyte morphology of several species of *Blechnum* has already been studied, mostly in Old World species such as *B. gibbum* (Lab.) Mett., *B. orientale* L. and *B. spicant* (L.) Wither (Stübner, 1882; Lampa, 1901; Döpp, 1927; Karpowicz, 1927; Stokey, 1951; Stokey & Atkinson, 1952a, 1952b; Kachroo, 1955; Stone, 1961; Nayar, 1962; Nayar, et al., 1966; Beisvag, 1970; Cousens, 1979, 1981; Chiou, 1989; Fernández et al., 1997; Menéndez et al., 2006a, 2006b), but it is scarcely known for the American species, with the exception of some from South America, mainly Chile and Argentina (Rodríguez-Ríos, 1973; Durán & de la Sota, 1996; Pérez-García et al., 1996).

Considering the morphological differences that exist in the *Blechnum* sporophyte, it is necessary to continue studies on the development of the gametophytic phase, in order to determine whether there are features that allow to recognize groups on infrageneric level.

This paper describes the gametophytic morphogenesis of *Blechnum appendiculatum* Willd., *B. falciforme* (Liebm.) C. Chr., *B. gracile* Kaulf., *B. occidentale* L., *B. polypodioides* Raddi, *B. schiedeanum* (Schltdl. ex C. Presl) Hieron., *B. serrulatum* Rich. and *B. ×caudatum* Cav. All species are native to Mexico.

MATERIALS AND METHODS

Spores were obtained from numerous locations in Mexico (Table 1). Fertile pinnae with mature sporangia were stored inside paper envelopes and left to dry in

Table 1. Sites of origin of the taxa under research.

Taxa	Vouchers	State/Municipality/Locality	Vegetation/ altitude
Blechnum appendiculatum Willd.	AMR-600	- Oaxaca, San Gabriel Mixtepec, ca. 4 km after San Juan Lachao Nuevo.	MRF, 1068 m
	AMR-628a	- Veracruz, Fortín de las Flores, ca. 3 km after Fortín, towards Orizaba.	OFC, 960 m
B. falciforme (Liebm.) C. Chr.	AMR-782	- Oaxaca, Totontepec Villa de Morelos, 3 km after Totontepec towards Santa María Yocochii.	MMF, 2064 m
B. gracile Kaulf.	AMR-851	- Veracruz, San Andrés Tuxtla, Lote 69 in the Los Tuxtlas Biology Station, UNAM, near Laguna Azul.	MEF, 150 m
B. occidentale L.	AMR-609	- Veracruz, Catemaco, ca. 1 km before Tebanca, towards San Pedro Soteapan.	MRF, 360 m
	AMR-614	- Veracruz, Catemaco, ca. 3 km after Coyame towards Adolfo López Mateos.	MEF, 650 m
B. polypodioides Raddi	AMR-604	- Oaxaca, San Pedro el Alto, 3.5 km before Santa María Jalatengo and 4 km after La Soledad, Pochutla-Miahuatlán road.	OPF, 1548 m
	AMR-855	- Oaxaca, Ayotzintepec, towards La Nueva Esperanza, 9 km after Valle Nacional towards La Esperanza.	MMF, 570 m
B. schiedeanum (Schltdl. ex C. Presl) Hieron.	AMR-716	- Veracruz, Juchique de Ferrer, ca. 1 km after Santa Rita, towards Misantla.	MMF, 1410 m
B. serrulatum Rich.	AMR-896	- Veracruz, Coatzacoalcos. 7 km before Coatzacoalcos, on the federal road Minatitlán-Coatzacoalcos.	SV, 0 m
B. xcaudatum Cav.	AMR-627	- Veracruz, Fortín de las Flores, ca. 3 km after Fortín towards Orizaba.	OFC, 960 m

AMR, Aniceto Mendoza Ruiz; OFC, oak forest with coffee plants; OPF, oak pine forest; MMF, mesophilous mountain forest; MEF, moist evergreen forest; MRF, montane rainforest; SV, swamp vegetation.

laboratory conditions to facilitate spore release. After several days, the contents of the envelopes were sifted with a metallic mesh with openings 0.074 mm in diameter to eliminate the remains of sporangia and indusia. Spores of all species were sown in Petri dishes 5 cm in diameter (20 dishes for each species, with three replicates for each species) containing previously sterilized agar with Thompson's nutrients (Klekowski, 1969; Mendoza-Ruiz & Pérez-García, 2005). The spores were spread on the surface of the solidified medium with a thin brush, with an average density of 100-150 spores/cm^2.

The Petri dishes were maintained in transparent plastic bags to avoid dehydration and contamination under a 12 h light/darkness photoperiod (with 75 watts "day-light" lamps) at 22-25 °C temperature. Each dish was initially opened every third day in order to determine when germination began and to observe the different developmental stages of the gametophyte, as well as to dampen the growth media with sterilized distilled water and enable sperm to move once the gametophytes became sexually mature. To investigate light requirements for germination and development, two dishes of each species were kept in darkness and opened 100 days after they had been sown. Spore sizes were also measured from material in water, using a compound microscope equipped with an ocular micrometer. For the average size of spores, thirty spores were measured for each species (Erdtman & Sorsa, 1971).

Photomicrographs were taken of live material through a stereoscopic microscope and optic microscope, with black and white, 35 mm, TIMAX-100 film an OLYMPUS BX41 microscope, with Digital Camera Olympus C-5060 wide zoom.

RESULTS

The spores of all studied species were monolete, ellipsoidal to spheroidal, light to dark brown or yellow, and achlorophyllous. The perispore was smooth, with small papillae, or reticulate. Spore size varied within the following ranges for each species: *Blechnum appendiculatum,* 37(41)49 µm long x 24(27)31 µm wide (Fig. 1); *B. falciforme,* 53(57)68 x 37(40)49 µm; *B. gracile,* 41(43)47 x 27(29)31 µm (Fig. 2); *B. occidentale,* 34(37)40 x 22(24)26 µm (Fig. 3); *B. polypodioides,* 37(40)43 x 23(25)28 µm; *B. schiedeanum,* 64(67)74 x 44(49)54 µm; *B. serrulatum,* 34(38)40 x 25(28)39 µm; and *B.* ×*caudatum,* 37(45)54 x 25(28)32 µm.

Spores of *Blechnum gracile*, *B. occidentale*, *B. polypodioides*, *B. serrulatum*, and *B.* ×*caudatum* germinated from day 6, whereas those of *B. falciforme* and *B.*



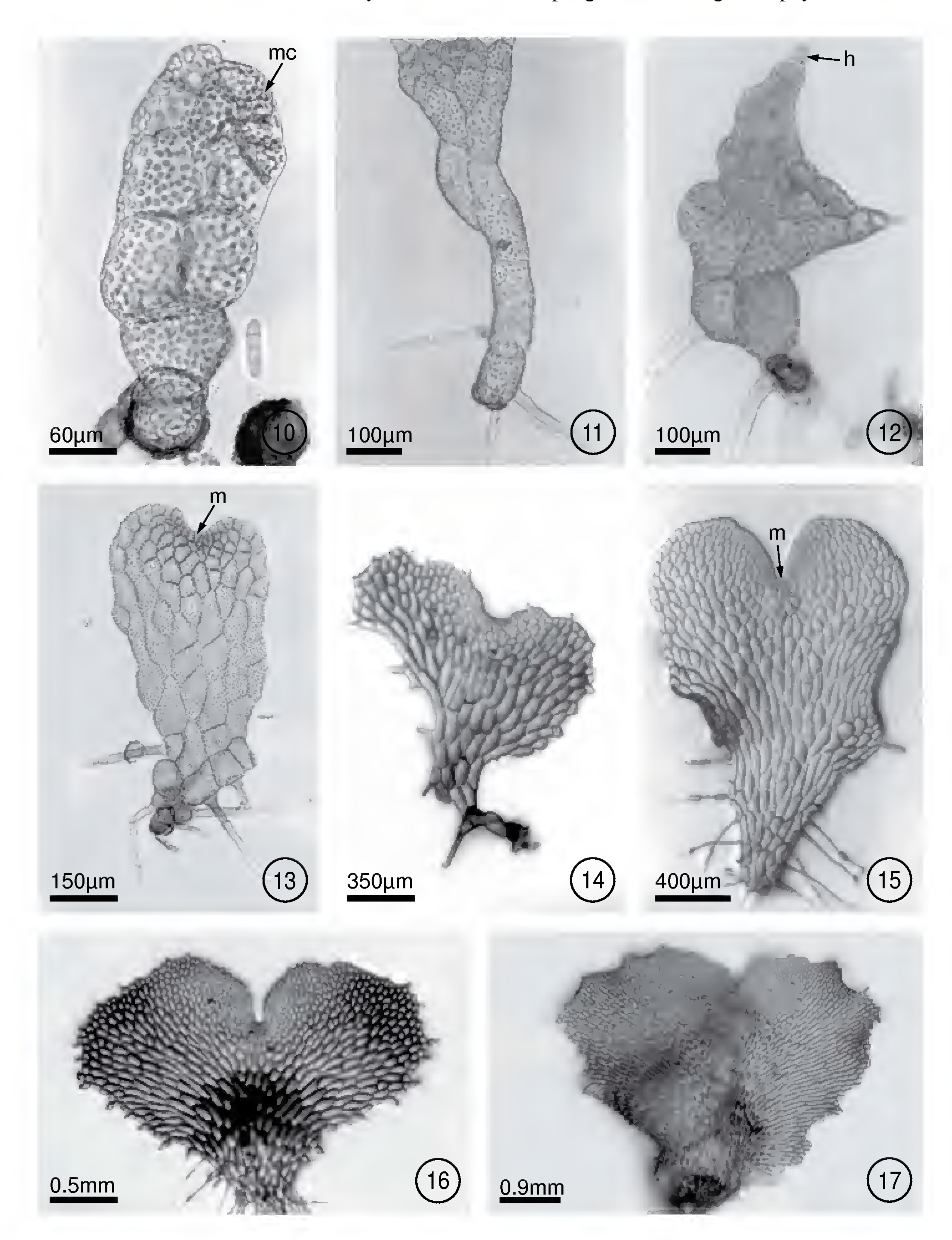
Figs. 1-9. Spores and filamentous phase of *Blechnum*. Figs. 1-3. *Blechnum* spores: 1. *B. appendiculatum*, 2. *B. gracile*, 3. *B. occidentale*; Fig. 4. germination. *B. occidentale* (8 days); Figs. 5-9. filamentous phase: 5 and 8. *B. occidentale* (9-11 days), 6 and 9. *B. polypodioides* (9 days), 7. *B. falciforme* (14 days). mc = meristematic cell, p = perispore, pc = prothallial cell, sc = spore cover, r = rhizoid.

schiedeanum germinated on day 14. All had *Vittaria*-type germination according to the criteria of Nayar & Kaur (1971). The first cellular division produced the hyaline rhizoidal cell, perpendicular to the polar axis of the spore. Subsequently, the prothallial cell, which was short and with abundant chloroplasts, emerged from the spores cover (Fig. 4). Because spores kept in the dark did not germinate after 100 days, they are considered positively photoblastic.

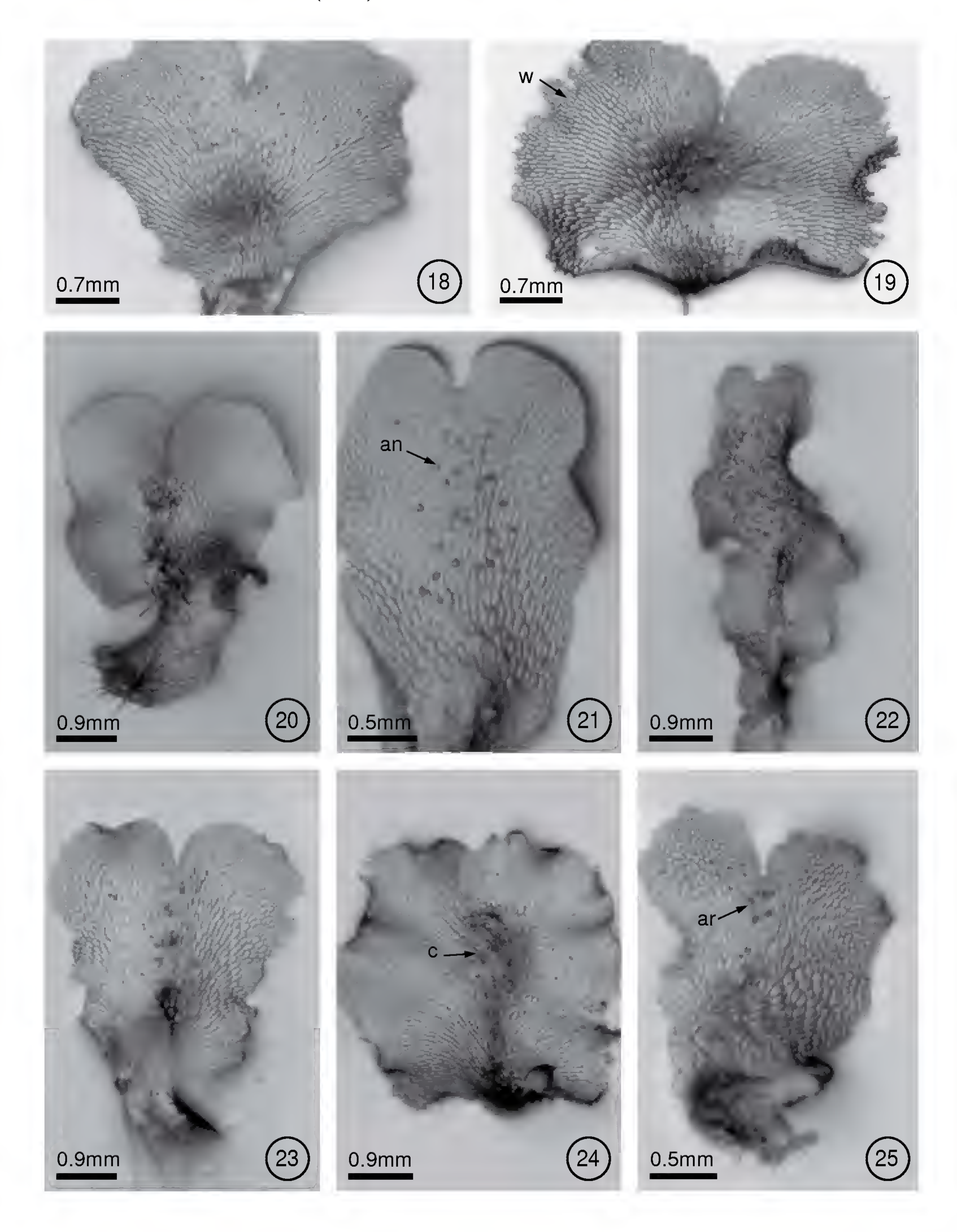
The prothallial cell underwent periclinal divisions giving rise to 2-6-cell-long uniseriate filaments. This was a short phase that began on day 10 and lasted until day 20 (Figs. 5-9). Once the filament was differentiated, a two-dimensional thallus developed in two ways: 1) from the apical cell of the filament which divided crosswise forming two unequal cells whose function is to form a meristematic cell that will initiate the development of the plate, or 2) through the lengthwise division of the intercalary cells of the filament that gave place to the plate phase and, later, to the establishment of a pluricellular meristem (Figs. 9-11). These two developmental types are present in some species of *Blechnum*.

Plate phase formation began between days 20-40 with an orientation change in the division plane of the apical cell, showing a variation in the prothallial development pattern. In *Blechnum gracile*, *B. occidentale*, *B. polypodioides, B. serrulatum*, and *B.* ×*caudatum*, the apical cell of the filament divided crosswise to form two unequal cells whose function was to form a meristematic cell from which the plate phase will later develop (Fig. 10). However, in *B. falciforme* and *B. schiedeanum* the plate phase began with the lengthwise division of the filament´s intercalary cells to form the plate and the subsequent establishment of a pluricellular meristem, which then formed the gametophytes (Figs. 11-15). Gametophyte development in all species corresponded to the *Aspidium*-type, according to Nayar & Kaur (1969). During this stage, the gametophytes were vegetative. Rhizoids were few in number, light brown, and longer than the gametophyte (Figs. 13-17). It is during this stage that the development of marginal unicellular hairs began in all the studied species (Figs. 11-12).

All species were unisexual and gametangia (initially archegonia) differentiated between day 50 and day 80. Archegoniate individuals were the first to develop (protogynous) within a population and did so within an asynchronous manner. In *Blechnum falciforme*, archegonia were apparent by day 40; in *B. gracile*, *B. polypodioides,* and *B. schiedeanum,* by day 50; in *B. occidentale*, *B. serrulatum*, and *B.* ×*caudatum* by day 60; and in *B. appendiculatum* by day 70. Female gametophytes were spatulate-cordiform to cordiform-reniform and the wings broad. The cushion became well differentiated between day 70 and 100 (Figs. 21-22)



Figs. 10-17. Development of plate phase and young plate gametophytes of *Blechnum*: 10. *B. falciforme* (14 days), 11. *B. occidentale* (22 days), 12. *B. serrulatum* (11 days), 13. *B. falciforme* (28 days), 14. *B. gracile* (30 days), 15. *B. falciforme* (47 days), 16. *B. polypodioides* (41days), 17. *B. gracile* (50 days). m = meristem, mc = meristematic cell, h = hairs.



Figs. 18-25. Adult gametophytes of *Blechnum*: 18. vegetative gametophyte of *B. gracile* (50 days), 19. vegetative gametophytes of *B.* ×*caudatum* (69 days), 20. gametophyte with archegonia of *B. falciforme* (118 days), 21-22. gametophytes with antheridia of *B. falciforme* (80 and 118 days), 23. *B. schiedeanum*´s female gametophyte (100 days), 24-25. *B. apendiculatum*´s gametophytes with archegonia (50-100 days). an = antheridia, ar = archegonia, c = cushion, w = wings.

with numerous unicellular capitate hairs in the gametophyte margin and, in lesser amounts, on both surfaces (Figs. 26-27). The archegonia were distributed on the cushion near the meristematic zone (Figs. 20, 23-25, 28, 30, 31). Their necks were elongated, 4-5 cells long, and slightly curved towards the basal region of the gametophyte. The mouth was composed of 4 cells, and the necks of four rows 3-5 cells long (Fig. 32).

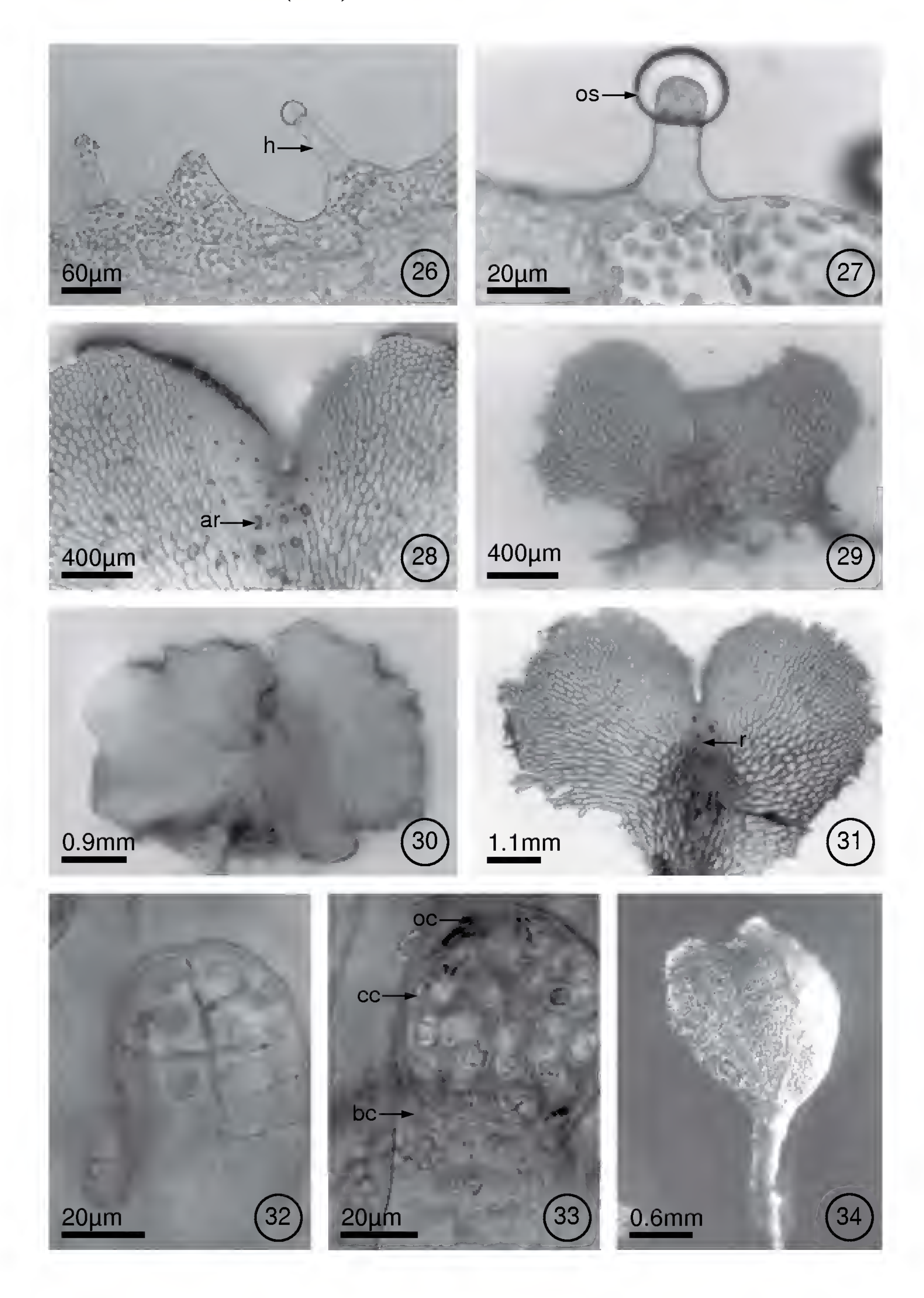
The antheridia developed after the archegonia, between day 60 and day 70 in most species, with the exception of *Blechnum appendiculatum* in which they developed after day 80 (Figs. 21-22). Male gametophytes were spatulate-elongated to spatulate-cordiform, their cushion scarcely differentiated between 60-80 days, and their wings were narrower than those of females (Figs. 18-25). Antheridia were oblong, sometimes with a slightly narrowed base, and composed of a basal cell, an annular or ring cell, and a very conspicuous opercular cell (Fig. 33). They were distributed irregularly on the on the ventral face of spatulate gametophytes.

Sporophytes developed in *Blechnum occidentale* and *B. polypodioides* 90 days after the spores had been sown. The first leaves were spatulate to bilobate with open dichotomous venation (Fig. 34). The petiole was long and terete with hyaline, capitate hairs. Stomata were found only on the abaxial side of the blade and lacked subsidiary cells.

DISCUSSION

The species studied here can be placed in two groups based on spore size and frond morphology. The first contains species with monomorphic leaves, such as *Blechnum appendiculatum*, *B. gracile*, *B. occidentale*, *B. polypodioides*, *B. serrulatum* and *B. ×caudatum*, which have small spores measuring on average 37 to 43 μm long by 24 to 31 μm wide. The second group contains *B. falciforme* and *B. schiedeanum*, which have dimorphic leaves and larger spores measuring on average 57 to 67 μm long by 40 to 49 μm wide. Duration of the pre-germination phase following exposure to agar based media corresponded with spore size, with smaller spore species germinating earlier than species with the two largest spores (i.e., *B. falciforme* and *B. schiedeanum*).

The *Aspidium*-type differs from all others in that there is often a margin of variability in the process of development and that it is conditioned by early hair formation in the young gametophyte.



Figs. 26-34. *Blechnum*´s adult gametophytes, hairs, gametangia and sporophytes: 26. *B. apendiculatum*´s marginal hairs (100 days), 27. *B. gracile*´s hairs with secretion (70 days), 28. *B. gracile*´s meristematic zone with archegonia (52 days), 29-30. *B. serrulatum*´s female gametophytes (43 and 52 days); 31. *B.×caudatum*´s female gametophyte (170 days), 32-33. neck of archegonium and antheridium of *B. polypodioides* (55 days), 34. *B. polypodioides* sporophyte´s first leaf (100 days). bc = basal cell, cc = annular cell, oc = opercular cell, os = oil secretion, ar = archegonia.

The *Aspidium*-type of development is a constant characteristic except in some Australian and Chilean species as *Blechnum nudum* Mett., *B. penna-marina* (Poir.) Kuhn and *B. chilense* (Kaulf.) Mett., which lack hairs during the entire developmental stage and therefore have the *Adiantum*-type of gametophyte development.

In the *Adiantum*-type, the terminal cell of the germ filament divides by a wall oblique to the long axis of the filament, and this is followed by another division by a wall at right angles to it. Thus, a transverse row of three daughter cells is formed, of which the middle one is wedge-shaped and acts as a meristematic cell (Nayar, 1962; Nayar & Kaur, 1971; Rodríguez-Ríos, 1973; Durán & de la Sota, 1996; Pérez-García et al., 1996).

Hair abundance varies among species and depends on the stage of prothallial development. In some species, such as *Blechnum cycadifolium* (Colla) Sturm., *B. orientale* L., and *B. gibbum* (Lab.) Mett., young prothallia are glabrous, with the hairs developing only when they are mature. In other species such as *B. buchtienii* Rosenst., *B. brasiliense* Desv. and *B. spicant* (L.) Roth, gametophytes develop hairs soon after attaining a plate phase as is the case for the species studied here (Atkinson, 1973). On the other hand, gametophytes of the Australian species *B. nudum* and *B. penna-marina*, and the Chilean species *B. chilense*, are completely glabrous during their entire development (Stokey & Atkinson, 1952a, 1952b; Stone, 1961; Pérez-García et al., 1996).

Although *Blechnum* is often considered to be a big genus, it is relatively homogeneous for such a large group. Morphological differences in the sporophytes such as monomorphic and dimorphic fronds and size of spores, seemingly share a similar pattern of germination and development prothallial, and gametophytes of *Blechnum* are not sufficiently known to provide information for an adequate infrageneric classification (Table 2). Study of the whole genus, especially the gametophytes, will be necessary to provide data for establishing relationships within the section, fronds dimorphic groups or fronds monomorphic groups (Smith, 1981, Tryon & Tryon, 1982; Mickel & Beitel, 1988; Mickel & Smith, 2004).

ACKNOWLEDGMENTS

We wish to thank to Victor Steinmann, Jacqueline Ceja, Gary K. Greer, and all our reviewers for the comments and suggestions made to the manuscript, and to Jorge Lodigiani for printing the photographic material.

Table 2. Morphological characteristics of *Blechnum´*s gametophytes and time of their incidence.

Taxa	Size of spore and perispore surface	Germination in days	Filamentous fase (days)	Plate phase (days)	Adult phase (days)
Blechnum appendiculatum	37(41)49 x 24(27)31 µm ± 2, slightly reticulated perispore with small granules	6-10	2-5-cells-long, cells cylindrical (14-20)	spatulate, (30-50)	♀♂ spatulate-cordiform to cordiform-reniform gametophyte with very wide wings and unicellular capitate hairs (70)
B. falciforme	53(57)68 x 37(40)49 µm ± 3, wide and reticulated perispore	14	2-5-cells-long, cells short (14-20)	spatulate, with hairs, (24-40)	♂ spatulate elongated with narrow wings (60) ♀ spatulate-cordiform to cordiform-reniform, with wide wings (40-60)
B. gracile	41(43)47 x 27(29)31 µm ± 1, smooth perispore	7	2-6-cells-long, cells long (9-13)	spatulate cordiform, with hairs, (20-35)	♀♂ spatulate-cordiform to cordiform-reniform with abundant marginal hairs (50-80)
B. occidentale	34(37)40 x 22(24)26 µm ± 1, smooth perispore	6-10	2-5-cells-long, cells long (10-15)	spatulate, (15-20)	♂ spatulate elongated (60) ♀ spatulate-cordiform and cordiform-reniform, with wide wings (50)
B. polypodioides	37(40)43 x 23(25)28 µm ± 2, smooth perispore	6	2-4-cells-long, cells short (6-10)	spatulate, (20)	♂ spatulate-cordiform (60) ♀ spatulate-cordiform to cordiform-reniform (50) ♀♂ (80)
B. schiedeanum	64(67)74 x 44(49)54 µm ± 2, reticulated perispore	14	2-5-cells long, cells long (10-14)	spatulate, (15-40)	♀ spatulate
B. serrulatum	34(38)40 x 24(28)30 µm ± 1, smooth perispore	10-12	2-5-cells-long (10-13)	spatulate, (14-20)	♂ spatulate-cordiform (60) ♀ cordiform-reniform (50)
B. xcaudatum	37(45)54 x 25(28) 32 µm ± 2, smooth perispore	6	2-6-cells-long, cells elongated (10-14)	spatulate, (14-20)	♀ spatulate-cordiform (50-60) (archegonia abortive)

LITERATURE CITED

Atkinson, L. R. 1973. The gametophytes and family relationships. In: Jermy, A. C., J. A. Crabbe & B. A. Thomas (eds.). The phylogeny and classification of the ferns. Bot. J. Linn. Soc. 67(Suppl. 1): 73-90.

Beisvâg, T. 1970. An electron microscopic investigation of the young gametophyte of *Blechnum spicant* (L.) Roth. Grana Palynol. 10: 121-135.

Chiou, W. I. 1989. The gametophytes and juvenile sporophytes of *Blechnum orientale* L. Yushania 6: 1-8.

Cousens, M. I. 1979. Gametophyte ontogeny, sex expression, and genetic load as measures of population divergence in *Blechnum spicant*. Amer. J. Bot. 66: 116-32.

Cousens, M. I. 1981. *Blechnum spicant*: habitat and vigor of optimal, marginal and disjunct populations, and field observations of gametophytes. Bot. Gaz. (Crawfordsville) 142: 251-258.

Döpp, W. 1927. Untersuchungen über die Entwicklung von Prothallien einheimischer Polypodiaceen. Pflanzenforschung 8: 1-58.

Durán, M. L. & E. R. de la Sota. 1996. Delayed sex expression of hybrid gametophytes in *Blechnum*. In: Gibby, J. M. & R. J. Johns (eds.). Pteridology in perspective. Royal Botanical Gardens. Kew. p. 515.

Erdtman, G. & P. Sorsa. 1971. Pollen and spore morphology/plant taxonomy. Pteridophyta. Almqvist & Wiksell. Stockholm. 302 pp.

Fernández, H., A. M. Bertrand & R. Sánchez-Tamés. 1997. Gametophyte culture and antheridiogen activity in *Blechnum spicant* L. Plant Cell Tissue Org. Cult. 50: 71-74.

Kachroo, P. 1955. Gametophytes of *Blechnum orientale* L. and *Blechnum* spp. Sci. & Cult. 20: 402-403.

Karpowicz, W. 1927. Studien über die Entwicklung der Prothallien und der ersten Sporophyllblätter der einheimischer Farnkräuter (Polypodiaceae). Bull. Int. Acad. Polon. Sci. Lettr. Sér. B 1: 1-26.

Klekowski, E. J., Jr. 1969. Reproductive biology of the pteridophyta. III. A study of the Blechnaceae. J. Linn. Soc. Bot. 62: 361-377.

Lampa, E. 1901. Über die Entwicklung einiger Farnprothallien. S. B. Akad. Wiss. Wien 110: 95-111.

Mendoza-Ruiz, A. & B. Pérez-García. 2005. Análisis comparativo de la fase sexual de dos especies de *Microgramma* (Polypodiaceae, Pleopeltoideae). Acta Bot. Mex. 71: 1-10.

Menéndez, V., A. M. Revilla & H. Fernández. 2006a. Growth and gender in the gametophyte of *Blechnum spicant* L. Plant Cell Tissue Org. Cult. 86: 47-53.

Menéndez, V., A. M. Revilla, P. Bernard, V. Gotor & H. Fernández. 2006b. Gibberellins and antheridiogen on sex in *Blechnum spicant* L. Plant Cell Rep. 25: 1104-1110.

Mickel, J. T. & J. M. Beitel. 1988. Pteridophyte flora of Oaxaca, Mexico. Mem. New York Bot. Gard. 46: 1-568.

Mickel, J. T. & A. R. Smith. 2004. The pteridophytes of Mexico. Mem. New York Bot. Gard. 88: 1-1054.

Moran, R. C. 1995. Blechnaceae. In: Moran R. C. & R. Riba (eds.). Flora Mesoamericana Vol. I. Psilotaceae a Salviniaceae. Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México, Missouri Botanical Garden and The Natural History Museum (London). pp. 325-332.

Nayar, B. K. 1962. The gametophyte of some species of *Blechnum*. J. Indian Bot. Soc. 41: 33-44.

Nayar, B. K., N. Bajpai & F. Raza. 1966. Morphological studies on some species of *Blechnum*, *Doodia*, *Woodwardia* and *Stenochlaena*-I: The gametophytes and juvenile sporophytes. J. Linn. Soc. Bot. 59: 405-423.

Nayar, B. K. & S. Kaur. 1969. Types of prothallial development in homosporous ferns. Phytomorphology 19: 179-188.

Nayar, B. K. & S. Kaur. 1971. Gametophytes of homosporous ferns. Bot. Rev. 37: 295-396.

Pérez-García, B., A. Mendoza & M. Ricci. 1996. Morfogénesis de la fase sexual de *Blechnum chilense* y *Blechnum cycadifolium* (Blechnaceae). Rev. Biol. Trop. 44: 491-497.

Rodríguez-Ríos, R. 1973. Morfología de los protalos y esporofitos jóvenes de algunas especies chilenas de *Blechnum* (Polypodiaceae s.l.). Gayana, Bot. 22: 1-30.

Smith, A. R. 1981. Pteridophytes. In: Breedlove, D. E. (ed.). Flora of Chiapas. Vol. 2. California Academy of Sciences. San Francisco. 370 pp.

Stokey, A. G. 1951. The contribution by the gametophyte to the classification of the homosporous ferns. Phytomorphology 1: 39-58.

Stokey, A. G. & L. Atkinson. 1952a. The gametophyte of *Stenochlaena palustris* (Burm.) Bedd. Phytomorphology 2: 1-9.

Stokey, A. G. & L. Atkinson. 1952b. The gametophyte of *Blechnum spicant* (L.) Wither and *B. buchtienii* Rosenst. Phytomorphology 2: 9-15.

Stone, I. 1961. The gametophytes of the victorian Blechnaceae I. *Blechnum nudum* (Labill.) Luerss. Austral. J. Bot. 9: 120-136.

Stübner, G. A. 1882. Beitrag zur Entwicklungsgeschichte des Vorkeims der Polypodiaceen. 13 Berichte über die Königliche Realschule I. Ordnung und Landwirtschaftsschule zu Döbeln. 19 pp.

Tryon, R. M. & A. F. Tryon. 1982. Ferns and allied plants, with special reference to tropical America. Springer-Verlag. New York. 857 pp.

Recibido en enero 2009.

Aceptado en abril 2009.

Acta Botanica Mexicana 88: 73-79 (2009)

LECTOTYPIFICATION OF *DIDYMAEA MEXICANA* HOOK. F. (RUBIACEAE, RUBIEAE) AND THE IDENTITY OF *D. ALSINOIDES* (SCHLTDL. & CHAM.) STANDL.

David Lorence

National Tropical Botanical Garden, 3530 Papalina Road,
Kalaheo, HI 96741 USA. lorence@ntbg.org

ABSTRACT

The name *Didymaea alsinoides* (Schltdl. & Cham.) Standl. has been incorrectly applied to a common and wide-ranging Mexican and Central American species whose correct identity is *Didymaea mexicana* Hook. f. In this paper a lectotype is selected and designated for *D. mexicana*. The characters separating these two frequently confused species are discussed. Further systematic studies of the genus *Didymaea* are suggested.

Key words: Central America, *Didymaea*, Mexico, Rubiaceae, typification.

RESUMEN

El nombre *Didymaea alsinoides* (Schltdl. & Cham). Standl. ha sido aplicado incorrectamente a una especie común y de amplia distribución en Mexico y América Central, cuya identidad correcta es *Didymaea mexicana* Hook. f. Se selecciona y designa un lectotipo para *D. mexicana*. Se discuten los caracteres que separan estos dos taxa. Se sugieren estudios sistemáticos adicionales del género *Didymaea*.

Palabras clave: América Central, *Didymaea*, México, Rubiaceae, tipificación.

Didymaea Hook. f. (Rubiaceae, Rubieae) is a small genus of low perennial herbs found at relatively high elevations, and ranging from central Mexico to Panama in Central America (Burger & Taylor, 1993). Recent molecular-phylogenetic evidence places *Didymaea* in subfamily Rubioideae, tribe Rubieae, subtribe Rubiinae along with other genera having leaf-like stipules and pluricolpate pollen, including *Galium* L. (Robbrecht & Manen, 2006).

Species of *Didymaea* are characterized by their procumbent or climbing stems, opposite leaves with ovate, oblong-ovate, lanceolate, elliptic, or rarely linear blades, small, shallowly to deeply bilobed or geminate interpetiolar stipules, axillary inflorescences with small, bisexual homostylous flowers with calyces reduced or absent, small, white to purple corollas with short tubes and 4-valvate lobes, 4 stamens with dorsifixed anthers, 2-locular ovaries with one axillary ovule per locule, and black, drupaceous fruits that are dimidiate and deeply bisulcate or sometimes subglobose.

Although names of 12 species and infraspecies of *Didymaea* have been published (Anonymous, 2005), the actual number is probably fewer (Burger & Taylor, 1993). Lorence (1999) recognized seven species in his nomenclator of Mexican and Central American Rubiaceae. Various authors (e.g. Rzedowski, 1983; Standley & Williams, 1975) have traditionally used characters such as stem length, habit (e.g., climbing versus procumbent), degree and type of pubescence, leaf texture, number of secondary leaf veins, degree of inflorescence branching, flower number, and the ratio of corolla lobe to corolla tube length to delineate species and infraspecific taxa in *Didymaea*. For example, in his treatment for Flora of Guatemala Williams recognized four species, including three new ones, based largely on leaf shape, venation patterns, and pubescence (Standley & Williams, 1975). In his treatment of Mexican Rubiaceae Borhidi (2006) recognized six species. However, when a large number of collections are examined, these characters seem to vary independently or intergrade, making it difficult to delimit species. Comparable variation in habit, leaf size, shape, and pubescence, and inflorescence morphology occurs in various other herbaceous Rubiaceae genera such as *Houstonia* L., possibly in relation to habitat and microsite conditions and introgression (Terrell, 2006).

During the course of preparing a treatment of *Didymaea* for the Flora Mesoamericana project the author studied herbarium specimens from throughout the range of the genus, and types of all the described species were examined. This study shows that the name *Didymaea alsinoides* (Schltdl. & Cham.) Standl. has been incorrectly applied to a common and wide-ranging species, whose correct identity is *Didymaea mexicana* Hook. f. Consequently, the name *Didymaea alsinoides* correctly applies to a different species that is restricted to central Mexico (Veracruz, Puebla, and Queretaro). The two species can be separated by the following key.

1 Stipules entire to shortly bifid (divided less than half way); fruits globose (non-dimidiate) .... *Didymaea alsinoides*

1 Stipules deeply bifid, divided more than half way, often nearly to the base; fruits dimidiate and deeply bisulcate (rarely only one seed developing and fruit thus appearing subglobose) .... *Didymaea mexicana*

Didymaea alsinoides (Schltdl. & Cham.) Standl., Publ. Field Mus. Nat. Hist., Bot. Ser. 18: 1291 (1938). Basionym: *Nertera alsinoides* Schltdl. & Cham., Linnaea 6: 413 (1831). Type: Mexico. "Cuesta Grande de Jalacingo", *Schiede & Deppe 1271* (Holotype HAL!). Fig. 1.

The type of *Nertera alsinoides* was collected in central Veracruz at Cuesta Grande de Jalacingo near the border with Puebla. In their protologue Schlechtendal & Chamisso state "drupa succosa globosa," a feature evident on the type (Fig. 1). Examination of the type collection clearly shows the entire to shortly bifid stipules (divided less than halfway) and globose (non-dimidiate) fruits, characters that differentiate this species from all other members of the genus. Additional collections examined from central Veracruz, Puebla, and Querétaro in central Mexico (but occurring nowhere else) also possess these features. Most herbarium collections annotated as *D. alsinoides* actually represent *D. mexicana,* a widespread species ranging from central Veracruz south to Panama.

In 1929 Standley described a second species *Didymaea linearis* Standl. characterized by pendant, vine-like stems and linear leaves based on a collection from Jalisco, Mexico, while also recognizing *D. mexicana* as a species ranging from south-central Mexico to Costa Rica (Standley, 1929). Subsequently he made the combination transferring *Nertera alsinoides* into *Didymaea,* and he placed *D. mexicana* in synonymy under *D. alsinoides* (Standley, 1938: 1291). Apparently he had not examined the type stating: "While I have seen no authentic material of *Nertera alsinoides*, the rather brief description seems to apply without any doubt to *Didymaea,* and I do not hesitate to make the transfer". Unfortunately, Standley's broad species concept of *D. alsinoides* and synonymy of *D. mexicana* have been widely adopted in the literature and have contributed to the confusion in this group. Lorence (1999) did recognize *D. alsinoides* and *D. mexicana* as distinct species without discussing the differences.

Didymaea mexicana Hook. f. in Benth. & Hook. f., Gen. Pl. 2: 150 (1873). Lectotype: Mexico. "Mexique, à Izhuatlancillo, région d'Orizaba, 12 Septemb. 1866, *E. Bourgeau 3050*" (K! right hand collection no. K000173295, here designated; isolectotype K! top collection, no. K000173298). Fig. 2.



Fig. 1. Holotype of *Nertera alsinoides* Schltdl. & Cham. (*Schiede & Deppe 1271*, HAL).



Fig. 2. Lectotype of *Didymaea mexicana* Hook. f. (right hand collection, *Bourgeau 3050,* K).

Hooker (1878) noted that *Didymaea mexicana* is characterized by having geminate stipules (divided nearly to the base) and didymous fruits, features that clearly separate this species from *D. alsinoides* as noted above. Hooker's (1878) diagnostic illustration in Icones Plantarum (p. 55, plate 1271) clearly shows these features.

Hooker (1873) based his generic description of *Didymaea* in Genera Plantarum on the species *D. mexicana,* but cited no exsiccatae. Subsequently, in his description of *D. mexicana* Hooker (1878) first typified the species citing seven collections from Veracruz, Mexico, all at Kew. They are as follows: two collections mounted on same sheet, "Pic d'Orizaba à 10000', Jun-Oct 1840, *H. Galeotti 4405*" (left hand collection K000173296) and "Mexique, à Izhuatlancillo, région d'Orizaba, 12 Septemb. 1866, *E. Bourgeau 3050*" (right hand collection K000173295); two collections mounted on same sheet, "Pce. de Veracruz, Pic d'Orizaba, fl. en août, 1838, *J. Linden 1403*" (top collection K000173293) and "Pic Orizaba, 10000', *Liebmann*, Pl. Mexic. Liebm. Rubiaceae n. 255" (bottom collection, K000173294); two collections mounted on same sheet, "région d'Orizaba, 12 septembre, 1865-1866, *Bourgeau 3050*" (top collection K000173298) and "Mexico, *M. Bates s.n.*" (bottom collection, K000173297); and "Vera Cruz to Orizaba, from Dr. Meisner, 1857, *Fred Muller 1519"* (K000173292). One cited collection, *Bourgeau 98*, was not located.

These collections must be regarded as syntypes and, according to the International Code of Botanical Nomenclature, a lectotype should be selected from among them. The *Bourgeau 3050* specimen collected in Veracruz with the label reading "Mexique, à Izhuantlancillo, region d'Orzaba, E. Bourgeau, 12 Septemb. 1866" (K000173295, mounted on the right-hand side of the same sheet as *Galeotti 4405)* is here designated as the lectotype of *Didymaea mexicana*. This specimen was selected because the collection is large, showing the plant's habit, and also is fertile with ample fruits and flower buds. Furthermore a duplicate (isolectotype) of *Bourgeau 3050* also exists at Kew (K000173298), mounted on the top half of the same sheet with an unnumbered *Bates* collection.

As here interpreted, *Didymaea mexicana* is a widespread and morphologically variable species ranging from central Veracruz to Panama. However, it is possible that additional taxa are represented in this complex. A detailed study of the genus using morphological and molecular techniques is needed to more accurately circumscribe species and understand evolutionary trends in *Didymaea.* Mr. Jaime Pacheco T. (Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México) is currently studying the systematics of *Didymaea* focusing on morphology, anatomy, and palynology. This much needed work will undoubtedly increase our understanding of this fascinating genus.

ACKNOWLEDGMENTS

Thanks are extended to Charlotte M. Taylor for valuable discussions and comments on the manuscript. Prof. Uwe Braun (HAL) kindly provided a digital image of the type of *Nertera alsinoides*. The Board of Trustees of RBG Kew granted permission to publish the image of the type of *Didymaea mexicana*. I thank the curators of the following herbaria for loans or access to their collections: HAL, K, MEXU, MO, P, PTBG.

LITERATURE CITED

Anonymous. 2005. International Plant Names Index. Published in internet: http://www.ipni.org/index.html (accessed 12 April 2008).

Borhidi, A. 2006. Rubiáceas de México. Akadémiai Kiadó. Budapest. 512 pp.

Burger, W. C. & C. M. Taylor. 1993. Rubiaceae. In: Flora Costaricensis. Fieldiana, Bot. n.s. 33: 1-333.

Hooker, J. D. 1873. *Didymaea*. In: Hooker, J. D. & G. Bentham (eds.). Genera plantarum 2(1): 1-554.

Hooker, J. D. 1878. *Didymaea mexicana* Hook. f. Hooker's Icones Plantarum. p. 55, plate 1271.

Lorence, D. H. 1999. A nomenclator of Mexican and Central American Rubiaceae. Mo. Bot. Gard. Monogr. Ser. 73: 1-177.

Robbrecht, E. & J.-F. Manen. 2006. The major evolutionary lineages of the coffee family (Rubiaceae, angiosperms). Combined analysis (nDNA and cpDNA) to infer the position of *Coptosapelta* and *Luculia*, and supertree construction based on *rbcL, rps16, trnL-trnF* and *atpB-rbcL* data. A new classification in two subfamilies, Cinchonoideae and Rubioideae. Syst. Geogr. Pl. 76: 85-146.

Rzedowski, J. 1983. Dos nuevas especies mexicanas de la familia Rubiaceae. Bol. Soc. Bot. Méx. 44: 73-80.

Standley, P. C. 1929. Studies on American plants (Rubiaceae). I. Publ. Field Mus. Nat. Hist., Bot. Ser. 4: 264-291.

Standley, P. C. 1938. Rubiaceae. In: Flora of Costa Rica. Publ. Field Mus. Nat. Hist., Bot. Ser. 18: 1264-1380.

Standley, P. C. & L. O. Williams. 1975. Rubiaceae. In: Flora of Guatemala. Fieldiana Bot. 24(11): 1-274.

Terrell, E. E. 2006. Revision of *Houstonia* (Rubiaceae-Hedyotideae). Syst. Bot. Monogr. 48: 1-118.

Recibido en mayo de 2008.

Aceptado en mayo de 2009.



Acta Botanica Mexicana 88: 81-93 (2009)

NOTA SOBRE *BURSERA HETERESTHES* (BURSERACEAE)*

Jerzy Rzedowski y Graciela Calderón de Rzedowski

Instituto de Ecología, A.C., Centro Regional del Bajío,
Apdo. postal 386, 61600 Pátzcuaro, Michoacán, México.

RESUMEN

El examen de 135 números de colecta de *Bursera heteresthes* Bullock, depositados en su mayoría en los herbarios mexicanos, pudo revelar que: 1.- La distribución geográfica conocida de la especie se extiende del sur de Jalisco al este de Guatemala, pero en forma de tres áreas separadas, a mencionar: a) de Jalisco al oeste de Guerrero, b) del este de Oaxaca a la Depresión Central de Chiapas, y c) en el sector boreal y oriental de Guatemala. 2.- A pesar de las disyunciones y de la notable variabilidad morfológica de la especie, no parece haber fundamento para separarla en dos o más entidades taxonómicas, por lo que *B. steyermarkii* Standl., descrita de Guatemala, se ubica en sinonimia de *B. heteresthes*. 3.- El rasgo de los estaminodios heteromorfos y petaloides, enfatizado en la descripción original de *B. heteresthes*, no es característico en realidad de la especie, sino de un individuo con flores anormales. 4.- Los principales caracteres distintivos de *B. heteresthes* son: a) hojas casi siempre trifolioladas, rara vez algunas con cinco foliolos y entonces con el raquis anchamente alado, b) foliolos bien desarrollados por lo general de más de 3 cm de largo y con el margen crenado, serrado o dentado casi hasta la base, c) inflorescencia en forma de racimo o panícula más bien laxa y multiflora, cuyos ejes por lo general sólo llevan pelos glandulares. 5.- Aunque las características de sus hojas, inflorescencias y flores acercan a *B. heteresthes* a *B. biflora* (Rose) Standl., *B. fragrantissima* Bullock y *B. infernidialis* Guevara & Rzed., es factible que sus relaciones filogenéticas se dirijan más bien hacia *B. madrigalii* Rzed. & Calderón, en función del raquis anchamente alado de sus hojas quinquefolioladas.

Se incluye una descripción enmendada de la especie, ilustraciones de su distribución geográfica conocida y de la variabilidad de la forma de las hojas, así como una clave para

---

*Trabajo realizado con apoyo económico del Instituto de Ecología, A.C. (cuenta 20006), del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología y de la Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad.

separar las especies conocidas de *Bursera* sect. *Bullockia* que, al menos en algunas de sus poblaciones, tienen hojas mayormente trifolioladas.

Palabras clave: *Bursera*, Burseraceae, México.

ABSTRACT

The survey of 135 collections of *Bursera heteresthes* Bullock, deposited mostly in Mexican herbaria, reveals that: 1.- The known geographic distribution of the species extends from southern Jalisco to eastern Guatemala, but in three separated areas: a) from Jalisco to western Guerrero, b) from eastern Oaxaca to the Central Depression of Chiapas, c) the northern and eastern parts of Guatemala. 2.- In spite of its disjunct distribution and of the remarkable morphological variability of the species, there is no basis to split it into two or more taxonomic entities, and consequently *B. steyermarkii* Standl., described from Guatemala, is treated as a synonym of *B. heteresthes*. 3.- The heteromorphic and petaloid staminodes, a character emphasized in the original description of *B. heteresthes*, belongs to a tree with abnormal flowers, and in fact is not characteristic of the species. 4.- The main distinctive characters of *B. heteresthes* are: a) leaves almost always trifoliolate, seldom with five leaflets and then with a widely winged rachis, b) well developed leaves mostly more than 3 cm long and with a crenate, serrate o dentate margin extending almost to the base, c) inflorescence in the form of rather lax and many-flowered raceme or panicle, with axes usually only bearing glandular pubescence. 5.- Although the features of its leaves, inflorescences and flowers approach those of *B. biflora* (Rose) Standl., *B. fragrantissima* Bullock and *B. infernidialis* Guevara & Rzed., its possible phylogenetic relationships are rather towards *B. madrigalii* Rzed. & Calderón, on account of the widely winged leaf rachis of its quinquefoliolate leaves.

An emended description of the species, illustrations showing its known geographic distribution and the variability of its leaf-form, are included, as well as a key to separate the known species of *Bursera* sect. *Bullockia* which, at least in some populations, have mainly trifoliolate leaves.

Key words: *Bursera*, Burseraceae, Mexico.

En 1937 Bullock describió a *Bursera heteresthes* como especie nueva, basándose en ejemplares colectados por G. B. Hinton en el suroeste del Estado de México,

así como en áreas cercanas de Guerrero; posteriormente en 1939 publicó un dibujo de la misma.

En 1965 McVaugh y Rzedowski indicaron que su distribución conocida se extiende de Colima a Chiapas, citando, entre otros, varios ejemplares de Michoacán, Guerrero y Oaxaca.

En la actualidad en los acervos de los herbarios mexicanos se han podido encontrar más de 130 números de colecta correspondientes a *B. heteresthes* y con tal base pueden definirse datos nuevos y enmendar algunas observaciones realizadas con anterioridad respecto a esta planta.

Distribución geográfica y ecológica

Como ya lo adelantaron Rzedowski et al. (2005), el conjunto de los ejemplares de herbario ahora existentes revela que *B. heteresthes* presenta distribución geográfica disyunta, concretamente dividida en tres áreas separadas (Fig. 1). Una de ellas se extiende desde el sur de Jalisco hasta el sector occidental de Guerrero y la comarca adyacente del estado de México (aparentemente sin trascender el meridiano de 100° W). La segunda se centra en la porción meridional del Istmo de Tehuantepec, pero abarca también la mitad oriental de la costa de Oaxaca y una fracción de la cuenca del río Tehuantepec, penetrando asimismo a la Depresión Central de Chiapas. La tercera zona corresponde a enclaves menos húmedos de los alrededores del lago Petén Itza y a las partes secas del valle del río Matagua, respectivamente en el norte y en el oriente de Guatemala donde, de acuerdo con Linares (pers. com.), se han llegado a registrar individuos en un lugar ubicado a pocos kilómetros de la frontera con Honduras.

El aislamiento geográfico del área guatemalteca puede fundamentarse en función de factores ecológicos, pues se trata de manchones aislados de bosque tropical caducifolio, separados de tierras con vegetación similar por un tramo de más de 200 km de clima más húmedo. Semejante explicación, sin embargo, no cabe para la discontinuidad entre el oeste de Guerrero y el este de Oaxaca, pues en considerables porciones de la mitad oriental de la Depresión del Balsas, así como de la región costera ubicada en forma paralela, existen aparentemente las condiciones de temperatura y lluvia propicias para la presencia de este árbol. Su falta, entonces procede acreditarla a circunstancias ecológicas de épocas pasadas y la situación actual puede interpretarse como la reliquia de un área anteriormente más continua. De lo anterior, a su vez, puede deducirse que la especie en cuestión no es de origen particularmente reciente.

La ubicación ambiental de *B. heteresthes* en Guerrero fue resumida por Toledo Manzur (1982) en la siguiente forma: “su amplitud altitudinal es de casi el nivel del mar hasta los 1250 m”.

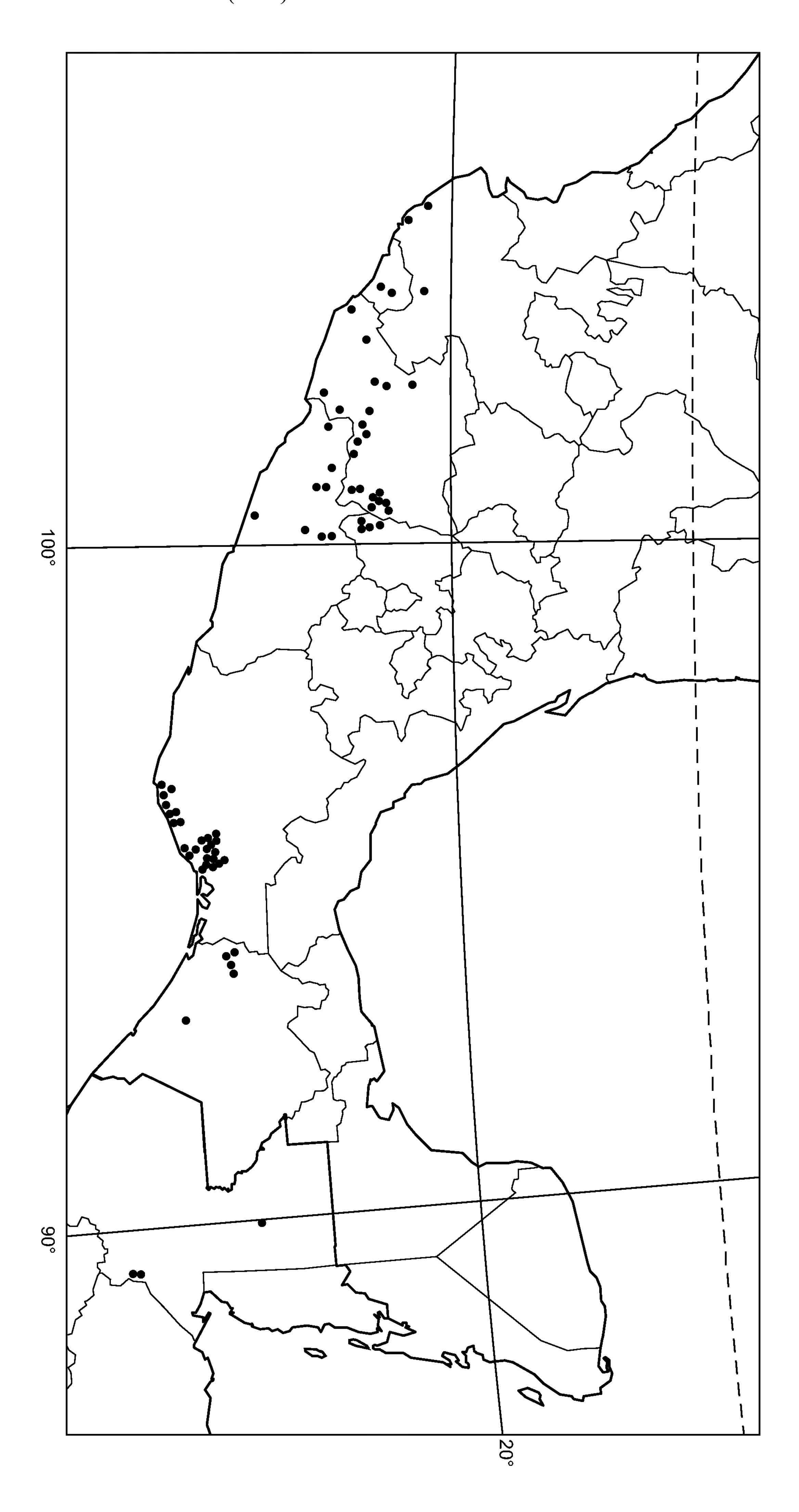


Fig. 1. Mapa de la distribución geográfica conocida de *Bursera heteresthes*.

Con la información adicional disponible ahora cabe agregar que se le ha encontrado creciendo hasta elevaciones de 1600 m s.n.m. Es componente frecuente y a menudo abundante del bosque tropical caducifolio, penetrando también en algunos sitios al encinar, al bosque espinoso y al tropical subcaducifolio. Al parecer no discrimina mucho en cuanto a tipos de sustrato geológico, pues se le ha encontrado en suelos derivados tanto de rocas metamórficas, como también ígneas y sedimentarias, concretamente en esquistos, basaltos, andesitas, granitos y calizas.

Dada su extensa área de repartición geográfica, así como la relativa frecuencia y abundancia, la planta no califica en términos generales como vulnerable a la extinción. Sin embargo, no es común en Chiapas, donde podría estar amenazada su supervivencia. No se sabe nada en este sentido respecto a las poblaciones de Guatemala.

Aspectos morfológicos

Vista en su conjunto, *B. heteresthes* es una entidad manifiestamente variable en su morfología. Tal circunstancia es, al menos en parte, congruente con su relativamente amplia distribución geográfica.

El área disyunta del conjunto podría sugerir la eventual existencia de más de una entidad taxonómica, pero el análisis de caracteres de los órganos vegetativos y reproductores realizado sobre el amplio material disponible no favorece tal hipótesis. Así, si bien las plantas del sureste de México y las de Centroamérica por lo común pueden distinguirse por los dientes más grandes (y en menor número) en el margen de los foliolos, tal rasgo también se ha encontrado en algunas poblaciones de Guerrero y Michoacán. El fruto de al menos algunas plantas guatemaltecas es más largo que los comúnmente encontrados en México; sin embargo, este mayor tamaño también se ha visto en varios ejemplares procedentes de Michoacán y de Guerrero. Otras diferencias se presentan en el largo, la densidad y la ubicación de la pubescencia, así como en el tamaño de las flores y en la forma de los catafilos, pero tales discrepancias tampoco ofrecen correlación geográfica suficientemente consistente.

El único carácter que al parecer separa bien las poblaciones occidentales de las orientales consiste en que en estas últimas todas las hojas suelen ser trifolioladas, mientras que en algunos individuos de las primeras se encuentran también contadas hojas con cinco foliolos y entonces con el raquis conspicuamente alado.

Por otra parte, en los comentarios de su protólogo Bullock (1937) enfatizó los siguientes rasgos como particularmente distintivos de *B. heteresthes*:

- desigualdad de la forma de los estaminodios de las flores femeninas (de esta particularidad deriva el epiteto de la especie) y apariencia petaloide de algunos de ellos;
- carencia de pubescencia en los peciolos, combinada con su abundante presencia en la superficie de los foliolos;
- hojas con tres o cinco foliolos.

El examen de amplios materiales de herbario de esta especie revela, sin embargo, que la condición glabra del peciolo no es constante y la particular forma de los estaminodios no se ha vuelto a encontrar fuera de los ejemplares tipo, de lo cual cabe deducir que estos últimos proceden de un árbol con flores anormales.

Como puede verse ahora, las principales particularidades diferenciales de la especie consisten en:

- hojas casi siempre trifolioladas, rara vez algunas con cinco foliolos y entonces con el raquis anchamente alado;
- foliolos bien desarrollados por lo general de más de 3 cm de largo y con el margen serrado, dentado o crenado casi hasta la base;
- inflorescencia en forma de racimo o panícula más bien laxa y multiflora, cuyos ejes por lo general carecen de pelos eglandulares.

La variabilidad de muchos caracteres de *B. heteresthes* es considerable, como lo ilustra por ejemplo el caso de la forma y del ápice de los foliolos (Fig. 2). En función de esta circunstancia resulta necesario enmendar la descripción de la especie y con tal propósito véase el Apéndice 1 de este nota.

Definición y ubicación taxonómica de la especie

A pesar de su manifiesta variabilidad morfológica, *B. heteresthes* parece ser una especie bien definida y sin muchas posibilidades de confundirse con algún otro taxon del género. Lo anterior resulta bastante claro a la luz de lo que se sabe ahora, pero no fue así en los tiempos de Bullock.

El mencionado autor en el mismo artículo de 1937 dio a conocer también como nueva a una planta procedente del estado de Guerrero que denominó *Bursera dubia*. La duda del epiteto obedecía al hecho de su gran semejanza con *B. heteresthes*, de la cual esencialmente difiere en sus hojas mayormente con 5 o 7 foliolos, en sus flores femeninas sin estaminodios heteromorfos y petaloides, en la pubescencia menos densa y en su estigma capitado, sin indicios de división.

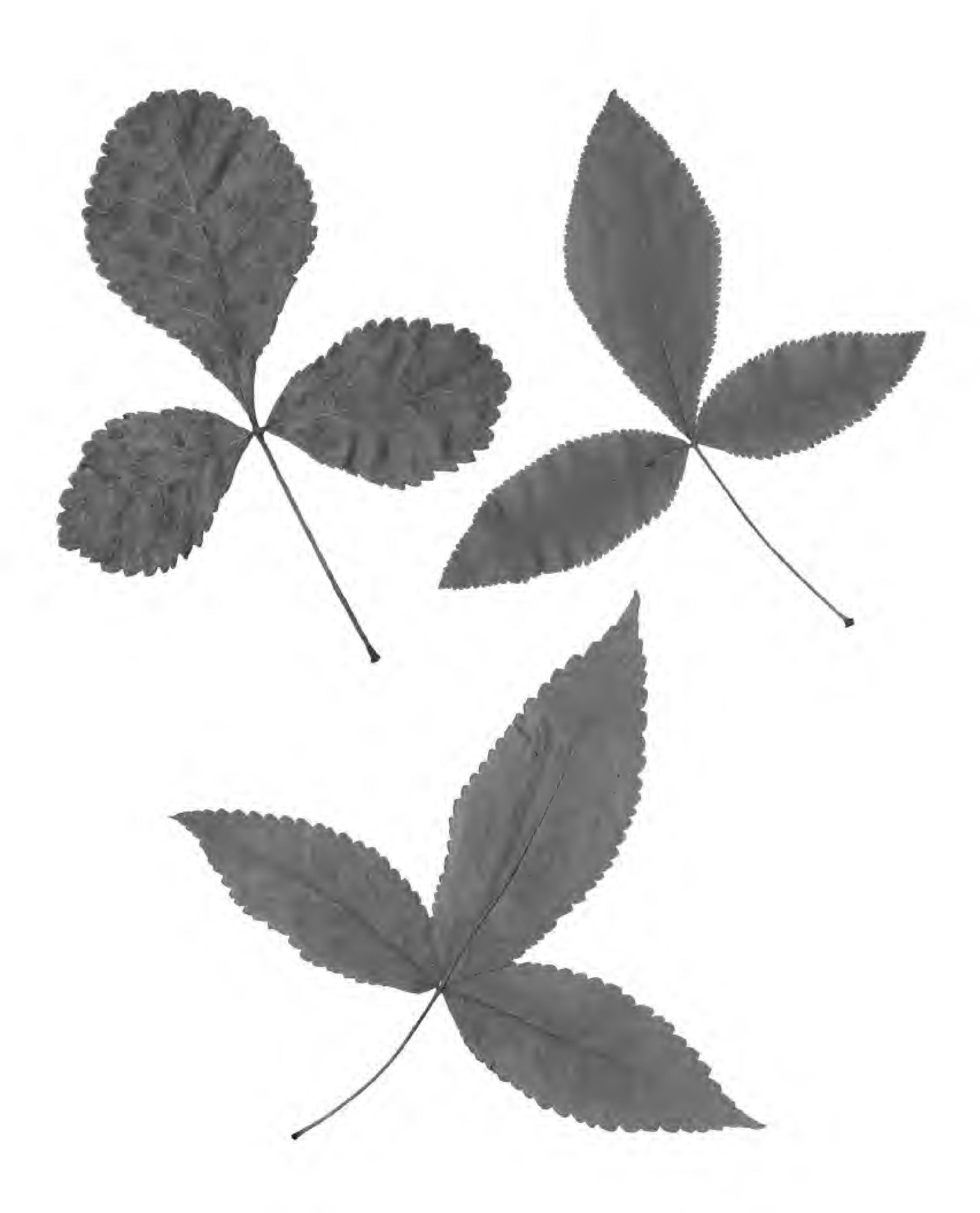


Fig. 2. Hojas de *Bursera heteresthes* encontradas en algunas de sus poblaciones, ilustrando la variabilidad en la forma general, en el ápice y en el margen de los foliolos.

En los más de setenta años transcurridos desde su descripción no se han vuelto a encontrar hasta la fecha individuos similares al tipo de *B. dubia* y, como ya lo conjeturaron McVaugh y Rzedowski (op. cit. p. 347), es muy probable que el árbol en cuestión corresponda a un híbrido entre *B. heteresthes* y *B. excelsa* (H.B.K.) Engl.

Por otra parte, en 1940 Standley publicó como nueva a *B. steyermarkii* con base en un par de ejemplares colectados en la parte oriental de Guatemala. Sin embargo, a la luz del conocimiento actual, las características de esta planta se ubican dentro de la variabilidad conocida de *B. heteresthes*. Tal similitud ya la habían revelado McVaugh y Rzedowski (op. cit. p. 350).

En cuanto a la ubicación taxonómica de la especie en discusión, no hay ninguna duda de que pertenece a la sección *Bullockia* (o subgénero *Elaphrium*), pero en lo que respecta a su afinidad o parentesco más cercano ha habido opiniones diversas, algunas bastante discrepantes.

En su descripción original Bullock (1937) la comparó con *B. coyucensis* Bullock y con *B. penicillata* (DC.) Engl. McVaugh y Rzedowski (op. cit., p. 324), en su esquema tentativo de la división del género la ubicaron en el grupo 5 al lado de *B. sarcopoda* P. G. Wilson y de *B. fragrantissima* Bullock. Guevara-Féfer y Rzedowski (1980), al margen de su descripción original de *B. infernidialis*, indicaron que esta última presenta analogía con *B. heteresthes* en cuanto al tamaño, forma y pubescencia de las flores.

Becerra y Venable (1999), en su análisis filogenético basado en las secuencias de ADN nuclear ribosomal, encontraron una íntima vinculación entre *B. heteresthes* y *B. mirandae* C. A. Toledo, pero en su trabajo posterior de metodología más amplia Becerra (2003) definió para la primera una posición relacionada con *B. coyucensis* y *B. aloexylon* (Schiede ex Schltdl.) Engl.

También es pertinente recordar que Toledo Manzur propuso subdividir la sección *Bullockia* en dos conjuntos naturales en atención a algunos rasgos del fruto y de la flor. De acuerdo con estos criterios, *B. heteresthes* queda colocada en el grupo 2, caracterizado por el cáliz con lóbulos fusionados en la base y el pseudoarilo cubriendo menos de 2/3 partes del hueso. De las especies arriba mencionadas, en tal clado se ubican también *B. aloexylon* (ahora conocida como *B. linanoe*), *B. fragrantissima, B. infernidialis, B. mirandae, B. penicillata* y *B. sarcopoda.*

De acuerdo con su morfología y en particular en función de sus hojas trifolioladas de peciolo largo y de las inflorescencias laxas, *B. heteresthes* se asemeja más a *B. fragrantissima*, a *B. infernidialis* y a *B. biflora* (Rose) Standl. que a cualquier otra especie conocida, y con las cuales probablemente tiene relaciones filogenéticas no muy lejanas.

Por otra parte, sin embargo, procede tomar en cuenta el hecho de que la condición de hojas con pocos foliolos deriva por lo general en la evolución de las especies del género *Bursera* de la de los foliolos más numerosos (Rzedowski y Kruse, 1979) y la tendencia de esta reducción se ha manifestado en forma independiente a lo largo de varios linajes distintos.

En tal contexto y en el caso especial de *B. heteresthes* es particularmente interesante el hecho de la eventual existencia (al menos en algunas poblaciones) de hojas con cinco foliolos, en las cuales el raquis se observa notablemente ensanchado y con frecuencia dentado. Este carácter, que muy probablemente representa un atavismo en la especie en cuestión, es raro en los componentes conocidos del grupo 2 de Toledo Manzur e indicaría una posible vinculación con *B. madrigalii* Rzed. & Calderón, planta recientemente descrita del norte de Michoacán, o bien, con algún antecesor común de ambos taxa.

Estudios morfológicos más detallados y posiblemente los basados en secuencias de genes podrán determinar si es correcta esta hipótesis, al igual que la que postula la condición híbrida de *B. dubia*.

A sugestión de uno de los revisores, en el apéndice 2 se incluye una clave para diferenciar las especies conocidas de la sección *Bullockia,* cuyas hojas, al menos en algunas poblaciones, son predominantemente trifolioladas.

AGRADECIMIENTOS

Se dan las gracias a José Ledis Linares por la información relativa a *B. heteresthes* en Centroamérica, a Victor W. Steinmann por la revisión del texto del abstract, a Rosa María Murillo y Violeta Espinosa por la elaboración de la ilustración relativa a la variabilidad de las hojas, y también a Rosalinda Medina y Armando Butanda por su ayuda en la consecución de la literatura.

LITERATURA CITADA

Becerra, J. X. 2003. Evolution of Mexican *Bursera* (Burseraceae) inferred from ITS, ETS and S5 nuclear ribosomal DNA sequences. Molec. Phylog. Evol. 26: 300-309.

Becerra, J. X. y D. L. Venable. 1999. Nuclear ribosomal DNA phylogeny and its implications for evolutionary trends in Mexican *Bursera* (Burseraceae). Amer. Journ. Bot. 86: 1047-1057.

Bullock, A. A. 1937. Contributions to the flora of tropical America: XXXII. Plantae hintonianae: IV. Further notes on the genus *Bursera*. Bull. Misc. Inf. Kew 1937: 447-457.

Bullock, A. A. 1939. *Bursera heteresthes* Bullock. Hooker's Icon. Pl. 34. t. 3394.

Guevara-Féfer, F. y J. Rzedowski. 1980. Notas sobre el género *Bursera* (Burseraceae) en Michoacán (México). I. Tres especies nuevas de los alrededores de la presa del Infiernillo, con algunos datos relativos a la región. Bol. Soc. Bot. Méx. 39: 63-81.

McVaugh, R. y J. Rzedowski. 1965. Synopsis of the genus *Bursera* L. in western Mexico, with notes on the material of *Bursera* collected by Sessé & Mociño. Kew Bull. 18: 317-382.

Rzedowski, J. y H. Kruse. 1979. Algunas tendencias evolutivas en *Bursera* (Burseraceae). Taxon 28: 103-116.

Rzedowski, J., R. Medina Lemos y G. Calderón de Rzedowski. 2005. Inventario del conocimiento taxonómico, así como de la diversidad y del endemismo regionales de las especies mexicanas de *Bursera* (Burseraceae). Acta Bot. Mex. 70: 85-111.

Toledo Manzur, C. A. 1982. El género *Bursera* (Burseraceae) en el estado de Guerrero. Tesis de licenciatura. Facultad de Ciencias. Universidad Nacional Autónoma de México, México, D.F. 182 pp.

Recibido en marzo 2009.

Aceptado en mayo 2009.

APÉNDICE 1

Descripción actualizada de la especie

Bursera heteresthes Bullock, Bull. Misc. Inf. Kew 1937: 454. 1937. Tipo: México, Estado de México, Cañitas, distr. Temascaltepec, 25.V.1935, *G. B. Hinton 7812* (holotipo K, isotipos F, GH, MEXU, MO, NY, US).

B. steyermarkii Standl., Publ. Field Mus. Nat. Hist. Bot. Ser. 22: 147. 1940. Tipo: Guatemala, Chiquimula, near Chiquimula, 20.X. 1939, *J. A. Steyermark 30068* (holotipo F, isotipo NY).

Árbol dioico hasta de 12(17.5) m de alto, aromático, tronco hasta de 50 cm de diámetro, su corteza gris, lisa, no exfoliante, ramas y ramillas rojizo-negruzcas, glabras; hojas mayormente agrupadas en los ápices de ramillas cortas, otras veces alternas sobre ramillas de crecimiento nuevo, precedidas en su aparición por un conjunto de varios catafilos muy pronto caedizos, éstos oblongos a lineares, de 0.5 a 2.5 cm de largo y de 1 a 5 mm de ancho, agudos a redondeados en el ápice, de color café, casi glabros a densamente pubérulos por fuera, por lo general densamente pubérulos por dentro y además con frecuencia cubiertos con escasas a numerosas glándulas sésiles o muy cortamente estipitadas; peciolo hasta de 7 cm de largo y de menos de 1 mm de ancho, algunas veces totalmente glabro, en otros casos pubérulo con los pelos a menudo concentrados en el extremo distal y/o agrupados en líneas longitudinales, foliolos por lo general 3, aunque algunas veces llevando 5 y entonces el raquis con alas de hasta 3.5 mm de ancho y por lo general dentadas, peciólulos por lo general ausentes, en otros casos hasta de 2 mm de largo, foliolos ovados a romboides, elípticos, obovados, oblongos o suborbiculares, de 2.5 a 8(12) cm de largo y de 1.5 a 5(6) cm de ancho, acuminados a redondeados en el ápice, largamente cuneados a redondeados en la base, fina a toscamente crenados a serrados o dentados hasta cerca de la base en el margen, de textura membranácea a cartácea con el tiempo, verdes oscuros en el haz, más pálidos en el envés, en la juventud densamente velutinos y suaves al tacto en ambas caras, con la edad tornándose pubérulos con pelos erectos a lo largo de las nervaduras, no pocas veces glabrescentes en el haz; inflorescencia en forma de racimo o panícula más o menos piramidal y laxa, hasta de 10(12 en fruto) cm de largo, sus ejes café-rojizos oscuros, por lo general provistos de cortos pelos glandulares y rara vez también de pubescencia eglandular, pedicelos capilares, hasta de 1.5 cm de largo, brácteas subuladas a lineares, hasta de 4 mm de largo, pubérulas y con algo de pubescencia glandular; flores masculinas tetrámeras, cáliz con 4 dientes o lóbulos triangulares a subulados, de 0.2 a 0.6 mm de largo, hispídulo-ciliados y a menudo también con pelos similares en el dorso, pétalos 4, oblongos a espatulados, con frecuencia cuculados, de 2.5 a 4.5 mm de largo, de color crema, hispídulo-pubérulos por fuera, con los pelos a menudo concentrados a lo largo de la línea media, estambres 8, filamentos de 1 a 1.5 mm de largo, todos iguales, glabros, anteras oblongas, de ca. 1 mm de largo, gineceo vestigial; flores femeninas semejantes a las masculinas, aunque por lo común más pequeñas, estaminodios 8, sus anteras de 0.5 a 0.7 mm de largo, ovario bilocular, glabro, estilo corto, estigmas 2; fruto bivalvado, ovoide a obovoide, de 6 a 10 mm de largo, de 4 a 7 mm de

diámetro, glabro, rojizo en la madurez, hueso elipsoide a suborbicular, algo aplanado, de 3 a 4 mm de largo, rodeado en su mitad inferior por un pseudoarilo rojo o anaranjado, la porción expuesta negra.

Florece en junio y julio; permanece sin follaje entre noviembre y mayo.

Nombres comunes registrados: chacaj (en Guatemala); copal, copal blanco, copal negro, copal prieto, palo de copal (en México).

Usos conocidos: la resina aromática se emplea como incienso; la madera se utiliza para la elaboración de utensilios domésticos y de monturas de caballo; también se usa como leña para hornear ladrillos y tejas.

Parte del material de herbario revisado: GUATEMALA: Chiquimula: around Chiquimula, *J. A. Steyermark 30068* (F). Flores: Lago Petén Itzá, *E. Contreras 6468* (MEXU).

MÉXICO: Chiapas: 5 km north of Cintalapa, *D. E. Breedlove 36577* (ENCB, MEXU); 58 km south of Mexican highway 190 on road to Nueva Concordia, municipio de Villa Corzo, *D. E. Breedlove 37642* (ENCB). Colima: La Escondida, Tecolapa, municipio de Tecomán, *S. Leber 749* (IEB); 3.5 m E of Colima on highway 80 at El Salado, *A. C. Gibson y M. McCarten 3411* (ENCB). Guerrero: a 41 km al SW de Zirándaro, camino Zirándaro - Guayameo, municipio de Zirándaro, *E. Martínez y J. C. Soto 1350* (ENCB, MEXU); 27 km desde desv. a Tlalzala, carr. hacia El Caracol, *C. Campos 833* (MEXU). Jalisco: barranca del Huisichi, camino Tolimán - El Huisichi, municipio de Tolimán, *R. Acevedo et al. 1653* (IEB); Estación de Investigación, Experimentación y Difusión Chamela, UNAM, municipio de La Huerta, *J. A. S. Magallanes 3084* (IEB, MEXU). México: 2 km sobre el camino del Corupo - Los Llanos, municipio de Tejupilco, *A. Flores et al. 978* (IEB, MEXU); Bejucos, *J. L. Camarillo 1806* (ENCB). Michoacán: en El Guayabo Zancón, municipio de Tiquicheo, *J. C. Soto 4291* (ENCB, MEXU); El Machute, cerca del ejido Hinduri, 30 km al NNW de Infiernillo, sobre la carretera a Nueva Italia, municipio de Arteaga, *J. Rzedowski 36871* (ENCB, IEB). Oaxaca: San José de Gracia, municipio de Totolapan, *F. Ventura 16528* (ENCB, IEB, MEXU); 1.2 km de la carretera costera # 200, camino a Playa Grande, 15°51'52" N, 95°54'38.6" W, municipio de San Pedro Huamelula, *S. Salas y A. Sánchez 5287* (IEB, MEXU).

APÉNDICE 2

Clave para identificar las especies conocidas de *Bursera* sect. *Bullockia* que, al menos en algunas poblaciones, tienen hojas predominantemente trifolioladas

1 Foliolo terminal dos o más veces más largo que los laterales; planta del noroeste de México .... *B. hindsiana*

1 Foliolo terminal menos de dos veces más largo que los laterales; plantas del centro y sur de México, así como de Guatemala.

2 Fruto maduro de más de 10 mm de largo.

3 Hojas glabras; lóbulos del cáliz de 1.3 a 1.5 mm de largo; planta sólo conocida del centro del estado de Guerrero .... *B. tecomaca*

3 Hojas pubérulas al menos en algunas nervaduras; lóbulos del cáliz de ca. 0.5 mm de largo; planta conocida del occidente de Guerrero, así como de Michoacán .... *B. fragrantissima*

2 Fruto maduro de 10 mm o menos de largo.

4 Foliolos de (2.5)5 a 8(12) cm de largo, ovados a romboides, elípticos, obovados, oblongos o suborbiculares, acuminados a redondeados en el ápice; inflorescencias hasta de 10 cm de largo; lóbulos del cáliz de 0.2 a 0.6 mm de largo; planta distribuida de Jalisco a Guatemala .... *B. heteresthes*

4 Foliolos de 1 a 4(6) cm de largo, ovados a obovados o subrómbicos, redondeados a agudos en el ápice; inflorescencias hasta de 4 cm de largo; lóbulos del cáliz de 0.5 a 1 mm de largo; plantas de distribución geográfica más restringida.

5 Foliolos obovados, de 1.8 a 5(6) cm de largo, cuneados en la base, serrados o dentados en el margen hasta cerca de la base; catafilos de 2 a 15 mm de largo; planta conocida de Michoacán y de algunas localidades adyacentes de Jalisco .... *B. infernidialis*

5 Foliolos ovados a elípticos, el terminal a menudo obovado-subrómbico, de 1 a 3(5) cm de largo, cuneados a truncados en la base, toscamente serrados en 1/2 a 3/4 distales del margen; catafilos de 3 a 5 mm de largo; planta conocida de Puebla y Oaxaca .... *B. biflora*



Toda correspondencia referente a suscripción, adquisición de números o canje, debe dirigirse a:

Acta Botanica Mexicana

Instituto de Ecología, A. C.

Centro Regional del Bajío

Apartado postal 386

61600 Pátzcuaro, Michoacán, México

rosamaria.murillo@inecol.edu.mx

Suscripción anual: México $300.00 Extranjero $30.00 U.S.D.

Acta Botanica Mexicana es una publicación trimestral, julio 2009. Editor responsable: Jerzy Rzedowski Rotter. Composición tipográfica: Violeta Espinosa Cardoso. Número de Certificado de Reserva otorgado por el Instituto Nacional del Derecho de Autor: 04-2004-0719192751000-102. Número de Certificado de Licitud de título: 13454. Número de Certificado de Licitud de Contenido: 11027. Domicilio de la publicación: Ave. Lázaro Cárdenas 253, 61600 Pátzcuaro, Michoacán, México. Imprenta: Imprenta Tavera Hermanos, S.A. de C.V. Ave. Lázaro Cárdenas 3052, Col. Chapultepec Sur, 58260 Morelia, Michoacán, México. Distribuidor: Instituto de Ecología, A.C., Centro Regional del Bajío, Ave. Lázaro Cárdenas 253, apdo. postal 386, 61600 Pátzcuaro, Michoacán, México. http://www.inecol.edu.mx/abm



Acta Botanica Mexicana, **Núm. 88 (2009)**

CONTENIDO